

文章编号: 1004-7220(2023)02-0255-06

沟槽拓扑基底形貌对宫颈癌 HeLa 细胞迁移行为的影响

贾瑞洁, 王立, 安美文

(太原理工大学 生物医学工程学院, 生物医学工程研究所, 太原 030024)

摘要:目的 探究沟槽拓扑基底形貌对宫颈癌 HeLa 细胞形态、迁移速率的影响。方法 在 4 种不同表面特征(平面、槽宽 10 μm 平行沟槽、槽宽 20 μm 平行沟槽、分叉沟槽)PDMS 基底上培养 HeLa 细胞,采用免疫荧光技术对 HeLa 细胞转染 F-actin,并用特异性探针标记线粒体,通过活细胞工作站获取细胞在不同时刻的位置、形态、线粒体分布。结果 槽宽 10 μm 平行沟槽中 HeLa 细胞较槽宽 20 μm 平行沟槽和平面基底排列更加有序,形态更加细长,但平均迁移速率更低;分叉口处 HeLa 细胞向分叉结构中伸出突出,线粒体主要分布在突出处和细胞核周围,分叉口的存在降低了槽宽 10 μm 平行沟槽中 HeLa 细胞的平均迁移速率。结论 沟槽拓扑基底形貌对 HeLa 细胞的形态和迁移速率有明显影响。研究结果有助于了解体内微环境中拓扑结构在影响 HeLa 细胞迁移过程中的作用,并为后续关于宫颈癌侵袭与转移的研究提供参考。

关键词: HeLa 细胞; 宫颈癌; 拓扑结构; 细胞形态; 迁移速率

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2023.02.008

Effects of Groove Topography on Migration of Cervical Cancer HeLa Cells

JIA Ruijie, WANG Li, AN Meiwen

(Institute of Biomedical Engineering, College of Biomedical Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of groove topography on morphology and migration speed of cervical cancer HeLa cells. **Methods** HeLa cells were cultured on PDMS substrates with four different surface features, namely, flat substrate, 10 μm width parallel groove, 20 μm width parallel groove, bifurcate groove. Immunofluorescence technique was used to transfect F-actin in HeLa cells, and specific probes Mito-Tracker Green were used to label mitochondria. The location, morphology of cells and distribution of mitochondrial at different moments were obtained through the living cell system. **Results** Compared with 20 μm width parallel groove and flat substrate, HeLa cells in 10 μm width parallel groove were more orderly arranged and more elongated, but their migration speed was much slower. HeLa cells at the bifurcation protruded into branches and mitochondria were mainly distributed at the protrusion and around the nucleus. The bifurcation reduced the average migration speed of HeLa cells in 10 μm width parallel groove. **Conclusions** Groove topography has a significant effect on morphology and migration speed of HeLa cells. The research findings help to understand the role of topography in *in vivo* microenvironment during migration of HeLa cells, and provide references for the subsequent research on invasion and metastasis of cervical cancers.

Key words: HeLa cell; cervical cancer; topography; cell morphology; migration speed

收稿日期: 2022-03-15; 修回日期: 2022-03-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(31870934, 12002232)

通信作者: 安美文, 教授, E-mail: meiwen_an@163.com

宫颈癌是危害女性健康的恶性肿瘤之一。在宫颈癌转移过程中,细胞穿过细胞外基质(extracellular matrix, ECM)迁移到血液中^[1];期间,细胞感知并整合ECM中各种物理微环境(如基底形状、基底硬度等),从而采取特定的迁移机制向某一方向迁移。迁移过程中,细胞骨架在维持细胞形态的同时,能够为细胞提供向前移动的牵引力^[2]。肌动蛋白丝作为细胞骨架的主要成分之一,与肌球蛋白II(Myosin II)共同作用拉动细胞后缘脱黏附。同时,在狭窄限制中,这种共同作用使细胞后缘骨架向前挤压及收缩,推动坚硬的细胞核,并使细胞向前移动^[3]。

ECM通常由微米级的纤维网络结构组成,纤维间的空隙一般在数百微米范围内,形成网状结构的致密限制,从而引导细胞的形态变化、黏附和迁移^[4-7]。癌细胞可在前导癌细胞、癌症相关间质细胞或固有解剖结构构建的3D通道中迁移^[8]。利用多光子显微技术的研究表明,组织微环境中包含直径1~20 μm 孔隙以及宽度3~30 μm 、长达0.6 mm限制性通道^[9]。

平行沟槽微通道能够提供具有确定微米尺寸的3D通道,并且便于分析单个细胞的迁移情况,在再生医学和肿瘤组织工程领域应用广泛^[10-11]。但这种设计忽略体内由限制性通道的交叉造成的迁移困境,使迁移机制呈现更多的复杂性。本文制备

具有平行沟槽微通道结构的PDMS基底,并设计分叉结构,模拟宫颈癌HeLa细胞在迁移时所面临的复杂物理微环境,从细胞迁移及迁移过程中细胞变形入手,为癌变组织微环境的研究提供支持。

1 材料与方法

1.1 基底设计、制作、预处理

如图1所示,采用软光刻技术^[12]在硅片表面精确制造出本文所需的特征性拓扑结构,分别为平面、槽宽10 μm 平行沟槽(槽宽10 μm 、槽宽20 μm 、槽深10 μm)、槽宽20 μm 平行沟槽(槽宽20 μm 、槽宽20 μm 、槽深10 μm)、分叉沟槽(槽宽10 μm 、槽深10 μm 、分叉部分槽宽3 μm)。将PDMS预聚物及固化剂(Dow Chemical公司,美国)按照10:1均匀混合,并离心去除气泡后倾倒在硅片表面。置于70 $^{\circ}\text{C}$ 烘干箱(北京中兴伟业仪器有限公司)内5 h使其充分固化,随后用镊子将表面具有特定三维结构的PDMS薄膜从硅片上剥离,切割成边长10 mm正方形并放入培养皿中。使用氧离子溅射仪(北京中科科仪股份有限公司)对PDMS薄膜进行亲水处理,加入12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 鼠尾I型胶原蛋白(北京索莱宝科技有限公司)37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h,或加入PBS(赛文创新北京生物科技有限公司)于4 $^{\circ}\text{C}$ 保存待用。用普通倒置显微镜(Olympus公司,日本)观察PDMS基底的表面结构。

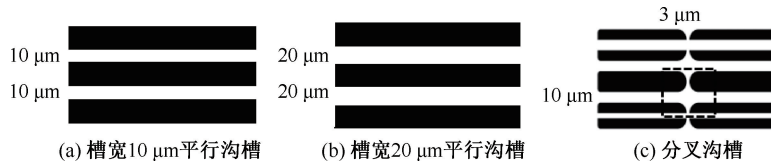


图1 PDMS基底设计

Fig. 1 Design of PDMS substrate (a) 10 μm width parallel groove, (b) 20 μm width parallel groove, (c) Bifurcate groove
注:白色为沟槽,黑色为脊。

1.2 细胞株处理

人宫颈癌HeLa细胞株购于美国菌种保藏中心。利用pcDNA3.1_Lifeact-mCherry^[13](Addgene plasmid # 67302,美国)转染细胞,经G418(北京索莱宝科技有限公司)抗性筛选,挑取单克隆荧光细胞,获得稳定表达F-actin荧光的HeLa细胞株。用含10%胎牛血清(Gibco公司,美国)的高糖DMEM培养液(Hyclone公司,美国)培养,经传代后接种在

普通培养皿(无锡耐思生命科技股份有限公司)中待用。根据实验需要,分别使用Hoechst 33258(北京索莱宝科技有限公司)、线粒体绿色荧光探针Mito-Tracker Green(上海碧云天生物技术有限公司)对细胞核和线粒体进行荧光标记。

1.3 不同基底上HeLa细胞黏附形态

接种上述HeLa细胞于铺有PDMS基底的24孔板,放入37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂细胞培养箱(Thermo公司,美

国),待充分贴壁后,Hoechst 33258 37 °C 染色细胞核 30 min,在活细胞工作站(BioTek 公司,美国)观测 HeLa 细胞在沟槽微通道及平面基底上的铺展形态。

1.4 不同基底上 HeLa 细胞迁移速率

操作同 1.3 节,待细胞充分贴壁后,选取平面、平行沟槽及分叉口处的细胞,每隔 0.5 h 拍照记录细胞位置(细胞的几何中心),共计 12 h,记为实验组。抑制剂组为 Myosin II 的 ATP 酶活性抑制剂 Blebbistatin(30 $\mu\text{mol/L}$,0.2% DMSO)处理,对照组为 0.2% DMSO 处理,两组中 Blebbistatin 或 DMSO 均随延时拍摄对细胞作用 12 h。细胞的迁移速率定义为单位时间内细胞迁移的距离。

1.5 分叉口处 HeLa 细胞变形及线粒体分布

操作同 1.3 节,Hoechst 33258 染色细胞核后,使用线粒体绿色荧光探针 Mito-Tracker Green 于 37 °C 荧光标记线粒体,随后放入活细胞工作站,选

取位于分叉口处的细胞,每隔 0.5 h 记录细胞形态及线粒体分布,共计 12 h。利用 Image J 绘出不同时刻的细胞轮廓,分析分叉口处细胞骨架变形及线粒体分布特征。

1.6 统计学分析

实验数据以平均值 \pm 标准差表示,使用统计软件 SPSS 24.0 进行数据分析。若数据为正态分布,多组间采用单因素方差分析,两组间采用独立样本 t 检验;若数据为非正态分布,多组间采用 Mann-Whitney 检验,两组间采用 Kruskal-Wallis 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 实验结果

2.1 PDMS 基底形貌

在倒置显微镜下可观察到 PDMS 表面呈现规则排列的平行沟槽微通道和分叉结构(见图 2)。

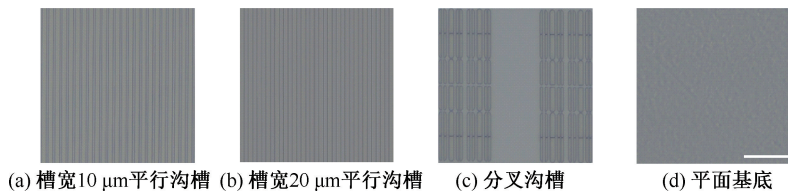


图 2 倒置显微镜下不同 PDMS 基底形貌(标尺=200 μm)

Fig. 2 Topography of different PDMS substrates under inverted microscope (a) 10 μm width parallel groove, (b) 20 μm width parallel groove, (c) Bifurcate groove, (d) Flat substrate

2.2 PDMS 基底上 HeLa 细胞黏附形态

在活细胞工作站中观察到接种 6 h 后,沟槽微通道中的 HeLa 细胞铺展形态不同于平面基底。平面基底上的细胞呈椭圆形或多边形,且排列无规则;而平行沟槽和分叉沟槽中的细胞沿微通道方向

呈现“接触诱导”排列。其中平行沟槽中细胞为细长的梭形,且在槽宽 10 μm 沟槽中细胞骨架及细胞核产生更强的变形以适应微通道的限制;在分叉口处,细胞向不同分叉结构中伸出突出,形态呈“十”字形(见图 3)。

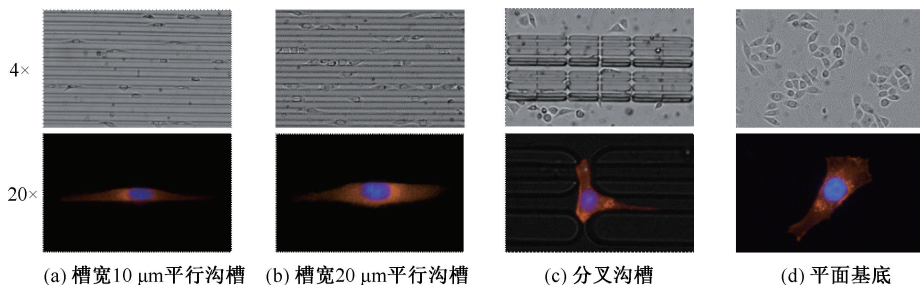


图 3 活细胞工作站观察不同 PDMS 基底上 HeLa 细胞形态

Fig. 3 Morphology of HeLa cells on different PDMS substrates observed by living cell system

(a) In 10 μm width parallel groove, (b) In 20 μm width parallel groove, (c) In bifurcate groove, (d) On flat substrate

注:红色为 F-actin,蓝色为细胞核。

2.3 PDMS 基底上 HeLa 细胞迁移速率

观测 HeLa 细胞在两种宽度平行沟槽、分叉沟槽和平面基底上的平均迁移速率,发现平面基底的平均迁移速率 $[(8.5 \pm 2.5) \mu\text{m}/\text{h}]$ 明显高于平行沟槽 $(P < 0.05)$,槽宽 $20 \mu\text{m}$ 沟槽中平均迁移速率 $[(5.2 \pm 3.6) \mu\text{m}/\text{h}]$ 高于槽宽 $10 \mu\text{m}$ 沟槽 $[(3.4 \pm 1.6) \mu\text{m}/\text{h}]$ $(P < 0.05)$,并且在槽宽 $10 \mu\text{m}$ 沟槽中,分叉结构又进一步降低了 HeLa 细胞的迁移速率 $[(2.3 \pm 1.0) \mu\text{m}/\text{h}]$ $(P < 0.05)$ 。本文结果表明,平行沟槽的空间限制和分叉结构都能够显著降低 HeLa 细胞的迁移速率。对 HeLa 细胞施加 $30 \mu\text{mol}/\text{L}$ Blebbistatin (0.2% DMSO),各组的迁移速率都显著下降,但各组之间迁移速率的变化趋势没有改变,依旧为 HeLa 细胞在分叉沟槽中迁移速率最小,在平面基底上的迁移速率最大(见图 4)。

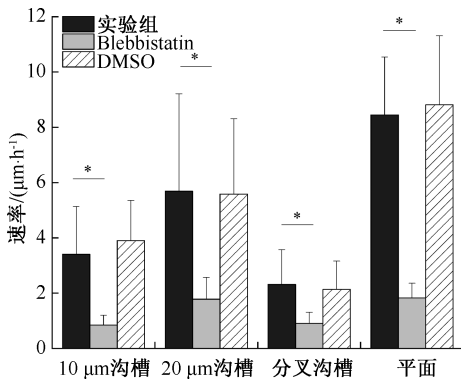


图 4 不同 PDMS 基底上 HeLa 细胞平均迁移速率

Fig. 4 Average migration speed of HeLa on different PDMS substrates

注: * $P < 0.05, n = 20$ 。

2.4 分叉口处 HeLa 细胞形态变化及线粒体分布

由 HeLa 细胞在槽宽 $10 \mu\text{m}$ 平行沟槽微通道中迁移过程中形态随时间的变化可见,细胞仅沿微通道向前进方向伸出细长的突出,细胞整体长度增加[见图 5(a)]。与在槽宽 $10 \mu\text{m}$ 平行沟槽微通道中不同,在分叉沟槽中,分叉口处的 HeLa 细胞向两侧的分叉结构伸出突出,同时收回了平行微通道方向的突出。随时间推移,HeLa 细胞逐渐收回分叉结构中的突出,并不断向平行微通道中延伸,细胞变得细长,细胞核在细胞骨架的推动下离开分叉口进入平行微通道中[见图 5(b)]。

0、60 min 时,分叉口处的细胞中,线粒体在槽宽 $10 \mu\text{m}$ 平行微通道和两侧槽宽 $3 \mu\text{m}$ 分叉部分中

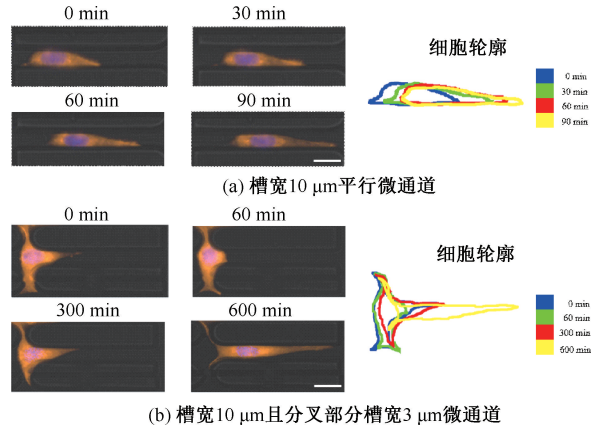


图 5 HeLa 细胞在不同 PDMS 基底上迁移的时间序列图

Fig. 5 Image sequence of HeLa cell migration process on different PDMS substrates (a) In $10 \mu\text{m}$ width parallel microchannel,

(b) In $10 \mu\text{m}$ width microchannel with $3 \mu\text{m}$ furcation

注:红色为 F-actin,蓝色为细胞核;标尺 = $20 \mu\text{m}$ 。

都有明显聚集,其中平行微通道中细胞前端的荧光分布更强;300 min 时,细胞核向前进入平行微通道中,线粒体随细胞体一起向平行微通道中延伸;当细胞核完全进入平行微通道中,线粒体主要分布在细胞核两端,没有观察到线粒体在细胞前缘突出中的分布,这与平面上 HeLa 细胞中线粒体主要分布在核周相似(见图 6)。

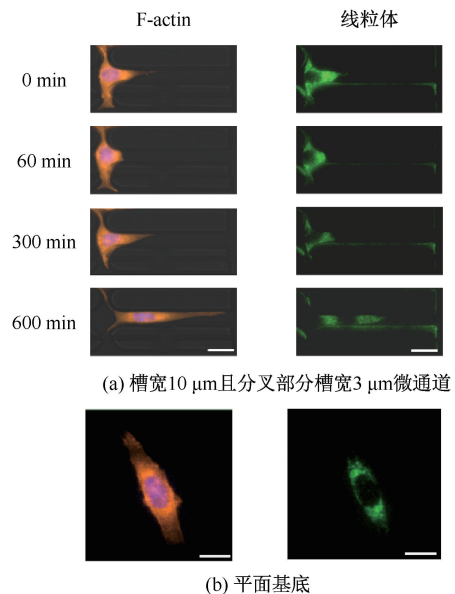


图 6 不同 PDMS 基底上线粒体在 HeLa 细胞内分布

Fig. 6 Distributions of mitochondria in HeLa cells on different PDMS substrates (a) In $10 \mu\text{m}$ wide microchannel with furcation of $3 \mu\text{m}$, (b) On flat substrate

注:红色为 F-actin,蓝色为细胞核,绿色为线粒体;标尺 = $20 \mu\text{m}$ 。

3 讨论

研究表明,体外人工构建基底的拓扑结构如几何形状、尺寸能够调节细胞形态并引导细胞运动^[14-16]。本文研究基底拓扑结构的形貌对 HeLa 细胞形态、迁移速率的影响。结果显示,基底拓扑结构能影响细胞的黏附形态和排列规律。在平面基底上,HeLa 细胞呈不规则多边形或梭形,排列较杂乱;在平行沟槽中,HeLa 细胞沿微通道方向呈长梭形铺展,并且槽宽越小,细胞形态更加细长;在分叉口处,HeLa 细胞向分叉结构中伸出突出,整个细胞呈“十”字形(见图 3)。这种拓扑结构对细胞形态、排列的引导现象称为“接触诱导”,即沟槽微通道通过对细胞-基质黏附位点施加约束,引起细胞器和细胞骨架沿细胞长轴的极化排列^[17],为随后细胞的定向迁移奠定基础。

与平面基底相比,平行沟槽微通道中 HeLa 细胞的平均迁移速率减小,并且在槽宽 20 μm 沟槽中迁移速率高于槽宽 10 μm 沟槽。对 HeLa 细胞施加 Blebbistatin 后,不同基底上的细胞迁移速率均降低(见图 4)。该结果表明,平行沟槽微通道虽然增强了 HeLa 细胞迁移的定向性,却使细胞的迁移速率降低,且槽宽越小,降低效果越明显。本文推测造成这种现象的原因,一方面是由于在平行沟槽微通道中细胞过度地黏附在周围的基底表面,增大了细胞与通道壁的摩擦力^[18];另一方面,细胞核位于细胞中广泛连接的细胞骨架网络的中心,在 3D 细胞迁移中参与调节细胞收缩性和细胞对力学信号的敏感性^[19],限制性微通道中细胞核受到强烈挤压可能导致核破裂、DNA 损伤,从而限制细胞迁移,致使 HeLa 细胞的迁移速率降低^[20]。Myosin II 介导的肌动球蛋白张力是细胞内牵引力的主要来源之一^[21]。施加抑制剂 Blebbistatin 使微丝间无法产生应力,从而降低了细胞后缘收缩的速率,进而使各组细胞整体迁移速率减小^[22]。另外,有研究表明,Blebbistatin 延长细胞在基底上的黏附时间,增大细胞与通道的黏附区域,致使细胞长时间接触更多的阻力面,并需要整合更多的细胞皮层,导致细胞迁移速率下降^[18]。

细胞膜上黏着斑复合物将基底形貌——一种力学信号转导入细胞内,调节细胞突出的形成,而

后黏着斑复合物又将细胞内牵引力传递到基底表面,驱动细胞移动及变形^[23-25]。由于平行沟槽的限制,HeLa 细胞仅向迁移方向伸出突出[见图 5(a)];而分叉结构调节 HeLa 细胞向槽宽 3 μm 的分叉结构中伸出突出,以感知不同微通道中微环境并选择迁移方向。当作出决定后,细胞收回分叉结构中的突出,并继续向目标通道方向延伸突出;同时,细胞核在后部细胞骨架的推动下开始进入目标通道,这个过程共耗费 5 h。本文推测,正是这种“探索”影响了沿平行微通道方向的迁移,导致沿平行微通道方向的迁移速率降低[见图 5(b)]。线粒体是所有真核细胞的“动力工厂”,其主要功能是通过氧化磷酸化为细胞内生命活动提供三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP),与肿瘤细胞的迁移密切相关^[26]。在 0、60 min 时线粒体在细胞前端聚集,并且在 60、300 min 时细胞分别收回和伸出突出,说明线粒体的聚集为突出的缩回和延伸提供能量;在 300、600 min 时,线粒体荧光减弱,推测原因是长时间拍摄导致荧光淬灭,此时线粒体的分布与平面上相似,都较均匀地分布在细胞核周围,可能是细胞前后端长时间没有突出活动引起的。上述观测结果表明,线粒体的分布在一定程度上反映了分叉沟槽中细胞突出的生长情况。

4 结论

本文通过抑制 Myosin II 和对线粒体的观察,探究 HeLa 细胞在不同形貌沟槽微通道中的铺展形态和迁移行为。结果发现,槽宽 10、20 μm 平行沟槽微通道使 HeLa 细胞形态更加细长、排列更加有序,但使 HeLa 细胞的迁移速率下降;对 HeLa 细胞施加 Blebbistatin,使迁移速率进一步降低。在分叉沟槽中,HeLa 细胞向分叉结构中伸出突出,整体的迁移速率比在平行沟槽中低,细胞内线粒体主要分布在突出处和细胞核周围。本研究结果有助于了解基底拓扑结构在宫颈癌侵袭或转移机制中的作用。有关不同沟槽微通道中 Myosin II 在细胞内的分布及其对分叉口处细胞选择迁移方向的影响机制,还需利用更高倍数激光扫描共聚焦显微镜并从突出动力学角度进行探讨。

参考文献:

[1] FRIEDL P, SAHAI E, WEISS S, et al. New dimensions in

- cell migration [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(11): 743-747.
- [2] THOMAS PJ, RICK HA, SCHWARTZ MA, *et al.* Cell adhesion: Integrating cytoskeletal dynamics and cellular tension [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(9): 633-643.
- [3] LAEMMERMANN T, BADER BL, MONKLEY SJ, *et al.* Rapid leukocyte migration by integrin-independent flowing and squeezing [J]. *Nature*, 2008, 453(7191): 51-55.
- [4] BAKER BM, CHEN CS. Deconstructing the third dimension: How 3D culture microenvironments alter cellular cues [J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(13): 3015-3024.
- [5] CONDEELIS J, SEGALL JE. Intravital imaging of cell movement in tumours [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(12): 921-930.
- [6] 齐晓谨, 孟洁, 孔桦, 等. 表面微纳米沟槽结构对成纤维细胞粘附和骨架重排的促进作用[J]. *中国生物医学工程学报*, 2009, 28(6): 899-903.
- [7] NUHN JAM, GONG S, CHE X, *et al.* Microtissue size and cell-cell communication modulate cell migration in arrayed 3D collagen gels [J]. *Biomed Microdevices*, 2018, 20(3): 62.
- [8] PAUL CD, MISTRIOTIS P, KONSTANTOPOULOS K. Cancer cell motility: Lessons from migration in confined spaces [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(2): 131-140.
- [9] WEIGELIN B, BAKKER GJ, FRIEDL P. Intravital third harmonic generation microscopy of collective melanoma cell invasion [J]. *Intravital*, 2012, 1(1): 32-43.
- [10] GUPTA S, PATTESON AE, SCHWARZ JM. The role of vimentin-nuclear interactions in persistent cell motility through confined spaces [J]. *New J Phys*, 2021, 23(9): 093042.
- [11] HOLLE A, NEETHU G, CLAR K, *et al.* Cancer cells invade confined microchannels via a self-directed mesenchymal-to-amoeboid transition [J]. *Nano Lett*, 2019, 19(4): 2280-2290.
- [12] WU H, ODOM TW, CHIU DT, *et al.* Fabrication of complex three-dimensional microchannel systems in PDMS [J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(2): 554-559.
- [13] KAWANO F, SUZUKI H, FURUYA A, *et al.* Engineered pairs of distinct photoswitches for optogenetic control of cellular proteins [J]. *Nat Commun*, 2015, 6(1): 1-8.
- [14] YAO X, DING J. Effects of microstripe geometry on guided cell migration [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(25): 27971-27983.
- [15] RAMIREZ-SAN JUAN GR, OAKES PW, GARDEL ML. Contact guidance requires spatial control of leading-edge protrusion [J]. *Mol Biol Cell*, 2017, 28(8): 1043-1053.
- [16] 宫元卫, 孙树津, 吕东媛, 等. 基底微拓扑结构对细胞生物学行为的影响[J]. *医用生物力学*, 2013, 28(1): 115-120.
- GONG YW, SUN SJ, LV DY, *et al.* Impacts of surface micro-topography on cellular biological responses [J]. *J Med Biomech*, 2013, 28(1): 115-120.
- [17] DOYLE AD, WANG FW, MATSUMOTO K, *et al.* One-dimensional topography underlies three-dimensional fibrillar cell migration [J]. *J Cell Biol*, 2009, 184(4): 481-490.
- [18] JACOBELLI J, FRIEDMAN RS, CONTI MA, *et al.* Confinement-optimized three-dimensional T cell amoeboid motility is modulated via myosin IIA-regulated adhesions [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(10): 953-961.
- [19] GRAHAM DM, ANDERSEN T, SHAREK L, *et al.* Enucleated cells reveal differential roles of the nucleus in cell migration, polarity, and mechanotransduction [J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(3): 895-914.
- [20] DENAIS CM, GILBERT RM, ISERMANN P, *et al.* Nuclear envelope rupture and repair during cancer cell migration [J]. *Science*, 2016, 352(6283): 353-358.
- [21] CLARK K, LANGESLAG M, FIGDOR CG, *et al.* Myosin II and mechanotransduction: A balancing act [J]. *Trends Cell Biol*, 2007, 17(4): 178-186.
- [22] SCHAUB S, BOHNET S, LAURENT VM, *et al.* Comparative maps of motion and assembly of filamentous actin and Myosin II in migrating cells [J]. *Mol Biol Cell*, 2007, 18(10): 3723-3732.
- [23] 张颖, 王钰岚, 王楷群, 等. 基质刚度调节细胞-细胞外基质间黏附对肿瘤细胞迁移影响的模型研究[J]. *医用生物力学*, 2021, 36(4): 604-611.
- ZHANG Y, WANG YL, WANG KQ, *et al.* Influences of cell-ECM adhesion on migration of tumor cells regulated by ECM stiffness: A model study [J]. *J Med Biomech*, 2021, 36(4): 604-611.
- [24] SCHWARZ US, GARDEL ML. United we stand: integrating the actin cytoskeleton and cell-matrix adhesions in cellular mechanotransduction [J]. *J Cell Sci*, 2012, 125 (Pt 13): 3051-3060.
- [25] 李扬, 杨旺, 张泽洋, 等. 整合素传递力学信号影响间充质干细胞分化的研究进展[J]. *医用生物力学*, 2020, 35(2): 247-252.
- LI Y, YANG W, ZHANG ZY, *et al.* Advances in effects of integrin signaling on mesenchymal stem cell differentiation. [J]. *J Med Biomech*, 2020, 35(2): 247-252.
- [26] DENISENKO TV, GORBUNOVA AS, ZHIVOTOVSKY B. Mitochondrial involvement in migration, invasion and metastasis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 355.