

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2021.04.009

· 综述 ·

机械刺激对牙周骨组织工程干细胞分化的影响

李天乐, 常欣楠, 仇旭童, 付笛, 张陶

口腔疾病研究国家重点实验室国家口腔疾病临床医学研究中心四川大学华西口腔医院, 四川 成都(610041)

【摘要】 目前,细胞移植及其与支架材料的联合应用仍是牙周骨组织工程的主要策略之一。牙周骨组织中,牙槽骨和牙骨质等组织的硬度及空间结构有明显差异,支架材料的不同机械性能对干细胞的增殖、分化等生物学行为也具有不同诱导作用。研究显示,支架材料的基质硬度和拓扑结构等机械刺激因素参与调控包括脂肪来源间充质干细胞、牙周膜干细胞等在内的种子细胞的多种生物学行为。较硬的基质可促使干细胞的细胞骨架重塑,导致Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)核易位而影响基因转录,并通过Wnt/ β -catenin通路释放多种关键因子如碱性磷酸酶、骨钙素等,诱导其向成骨向分化。支架材料的拓扑结构也可影响干细胞的粘着力,促进细胞骨架重构并增加细胞硬度而促进其成骨向分化。笔者就机械刺激对牙周骨组织工程干细胞分化的影响作一综述。

【关键词】 牙周骨组织工程; 牙源性干细胞; 支架材料; 机械刺激; 基质硬度; 拓扑结构; 生物学行为; 成骨分化

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2021)04-0273-06

【引用著录格式】 李天乐,常欣楠,仇旭童,等.机械刺激对牙周骨组织工程干细胞分化的影响[J].口腔疾病防治,2021,29(4):273-278. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2021.04.009.



开放科学(资源服务)标识码(OSID)

Effect of mechanical stimulation on the differentiation of stem cells in periodontal bone tissue engineering

LI Tianle, CHANG Xinnan, QIU Xutong, FU Di, ZHANG Tao. State Key Laboratory of Oral Diseases, National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China
Corresponding author: ZHANG Tao, Email: taozhang@scu.edu.cn, Tel: 86-28-85503465

【Abstract】 Currently, cell transplantation in combination with scaffold materials are one of the main strategies in periodontal bone tissue engineering. In periodontal bone tissues, the stiffness and spatial structure of tissues such as alveolar bone and cementum differ, and the difference in mechanical properties of scaffolds also has disparate effects on the proliferation and differentiation of stem cells. Accumulating evidence shows that mechanical stimulating factors such as matrix stiffness and scaffold topography modulate biological behaviors of various seeding cells, including adipose-derived stem cells and periodontal ligament stem cells. A hard matrix can promote cytoskeletal stretching of stem cells, leading to nuclear translocation of Yes-associated protein (YAP) and promoting osteogenic differentiation by upregulating alkaline phosphatase (ALP) and osteocalcin (OCN) via the Wnt/ β -catenin pathway. The topologic structure of scaffolds can affect cell adhesion and cytoskeletal remodeling, increase the hardness of cells and promote the osteogenic differentiation of stem cells. In this paper, the effects of mechanical stimulation on the differentiation of stem cells in periodontal bone tissue engineering are reviewed.

【Key words】 periodontal bone tissue engineering; odontogenic stem cells; scaffold material; mechanical stimuli; matrix stiffness; topography; biological behavior; osteogenic differentiation

J Prev Treat Stomatol Dis, 2021, 29(4): 273-278.

【Competing interests】 The authors declare no competing interests.

This study was supported by the grants from National Natural Science Foundation of China (No.81800947) and Sichuan Science and Technology Program (No.2020YFS0176) and Postdoctoral Science Foundation of China (No.2018M640930).

【收稿日期】 2020-05-22; **【修回日期】** 2020-10-14

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81800947);四川省科技计划项目(2020YFS0176);中国博士后科学基金项目(2018M640930)

【作者简介】 李天乐,本科生,Email: 786864569@qq.com

【通信作者】 张陶,主治医师,博士,Email: taozhang@scu.edu.cn, Tel: 86-28-85503465

牙周骨组织工程是指运用组织工程的方法来恢复受损或缺失的牙周骨组织,包含牙骨质和牙槽骨等复杂组织结构的重建^[1]。目前,利用种子细胞合并支架材料和生物因子已能够成功修复大尺寸的组织缺陷^[2]。然而,由于牙周骨组织中牙槽骨和牙骨质等结构的硬度及空间结构有明显差异,支架材料的不同机械性能对干细胞的增殖、分化等生物学行为具有不同诱导作用。因此,需根据每个特定组织或器官的特异性,对生物支架进行个性化制备,从而增强种子细胞的附着和存活,改变其形态,引导种子细胞发生特定的功能性分化^[3]。目前,根据不同组织的结构和力学特征的差异性,可通过调整支架材料的基质硬度^[4-7]和基质拓扑结构^[8]等机械刺激因素为间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)^[9]、牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)^[10]等种子细胞提供合适的生长环境,促使其细胞骨架网络发生改变,利于其向特定方向发生分化。本综述概述了在牙周骨组织工程研究中,支架材料基质硬度、拓扑结构等机械刺激因素对种子细胞生物学行为的影响,期望通过调控支架材料的硬度和结构等性能,以还原细胞在牙周骨组织重建时的生理状态,提高骨组织重建的成功率,旨在为口腔相关骨组织的修复与重建提供新思路。

1 支架的基质硬度对牙周骨组织工程干细胞增殖分化的影响

不同机体组织中细胞所处的微环境不尽相同,细胞外基质硬度随基质成分的改变而具有较大差异。例如,胶原骨的硬度为25~40 kPa,脑组织的硬度相对较小为0.1~1.0 kPa。由此可见,组织硬度与组织和细胞的功能表达具有密切联系^[11-14]。研究表明,随着基质硬度增加,细胞可持续地从硬度较低向硬度较高的方向迁移,且迁移速度逐渐降低,增殖加快,细胞的黏附性增强,提示细胞外基质的硬度对细胞的定向运动有一定影响^[15]。随着聚丙烯酰胺(polyacrylamide, PAAM)凝胶硬度由95 Pa增至4.3 kPa,成纤维细胞迁移速度由0.81 $\mu\text{m}/\text{min}$ 明显降低至0.38 $\mu\text{m}/\text{min}$ 。当基质硬度从4.7 kPa增至14 kPa时,小鼠胚胎成纤维细胞系NIH 3T3在24 h和48 h后细胞增殖量分别达到硬度增加前的2倍和4倍。此外,基质硬度可通过调控TGF- β 的表达来调控细胞的凋亡,相对于硬度较高的细胞外基质,硬度较低的底物中细胞

凋亡数量明显增加^[16]。

基质硬度还可调控牙源干细胞的分化方向。将MSCs培养于不同弹性模量的基质上发现,干细胞可分化为软骨细胞、成骨细胞和神经元细胞等,较软的基质促使干细胞向神经分化,而较硬的基质更倾向于促使干细胞向成骨分化,介于软硬两者之间的基质硬度促进干细胞向成肌分化。MSCs接种在具有硬度梯度的基质表面时,细胞向硬度较高的区域迁移,且分化方向受硬度调控^[17]:脑(0.1~1 kPa)、肌肉(8~17 kPa)、胶原骨(25~40 kPa),其机制可能是MSCs通过细胞骨架重构,产生多种转导蛋白,从而诱导其基因表达发生变化^[18]。在具有生物相容性和可生物降解的聚天冬酰胺(poly aspartamide, PASP)的水凝胶上培养牙周膜细胞(periodontal ligament cells, PDLs),并根据基质硬度的变化检测其活性和分化能力。当基质硬度为0.1~1 kPa的软凝胶时,PDLs向神经源性分化,而当基质硬度升高至8~17 kPa时,PDLs向肌源性分化。对于细胞向成骨分化,基质硬度为最强的25~40 kPa最合适;并且该实验还发现在含有游离硫醇基团的PASP凝胶上能增强细胞活性,进一步促进了PDLs向成骨分化^[19]。整联蛋白 $\alpha 5/\beta 1$ 位于细胞表面,并参与hMSCs的成骨分化过程。研究发现在13~16 kPa的培养基上培养时,hMSCs呈椭圆形、脂肪细胞样外观;而在62~68 kPa培养基上培养时,整合素 $\alpha 5/\beta 1$ 和Wnt/ β -catenin下游分子的蛋白质表达增加。因此62~68 kPa的基质硬度能够通过整合素 $\alpha 5/\beta 1$ 和Wnt通路影响细胞内信号传导,进而促进hMSC的成骨能力^[20]。

基质硬度对干细胞成骨诱导机制的研究主要集中于Yes相关蛋白/转录共激活因子PDZ结合基序(Yes-associated protein/transcriptional coactivator with PDZ-binding motif, YAP/TAZ)。YAP/TAZ络合物主要通过以下两种途径调节细胞的机械敏感性:①Hippo途径,其中钙粘蛋白和反式钙粘蛋白相互作用导致YAP被隔离在细胞质中;②机械敏感的途径,其中细胞骨架张力促进YAP核易位和下游转录活动^[21]。这两种途径共同调控YAP/TAZ络合物的定位,在较软的水凝胶或可变形的纤维材料上,YAP存在于胞质中,而在坚硬的水凝胶上时,细胞响应骨架拉伸导致YAP定位于细胞核^[22]。细胞核中的YAP和TAZ蛋白,它们与DNA结合伴侣(即TEAD转录因子家族的成员)相互作

用,以调节基因转录,从而调控细胞的分化方向^[23]。对分子-细胞相互作用的研究显示重组核纤层蛋白-A(lamin-A)水平受到视黄酸(retinoic acid, RA)途径的协同调节,基质刚度的增加和核纤层蛋白-A表达促进RA受体- γ 的核蓄积增加,而RA拮抗药的使用可增强核纤层蛋白-A的基因上调,进而促进干细胞的成骨分化^[24]。

目前越来越多的研究已不仅仅局限于静态的基质硬度对细胞的影响,还将动态基质硬度引入,探究干细胞对局部微环境刚度变化的响应。大量研究都发现细胞可以保留来自过去培养环境中的硬度信息,并影响细胞未来的分化方向,即机械记忆。Peng等^[25]将MSCs先后在两个不同硬度的基质上培养,发现在高硬度基质(30 kPa)上培养时,根据培养时间由长到短依次分化为成骨细胞、骨骼肌细胞、脂肪细胞以及神经原细胞。随后将高硬度基质上的MSCs接种到低硬度基质(0.9 kPa)上,结果发现保留机械记忆的MSCs在低硬度基质上依次分化为成骨细胞和心肌细胞;但当低硬度基质的硬度再次上升到12 kPa后,仅观察到分化为成骨细胞的MSCs依旧保留着机械记忆;由此可推断,MSCs机械记忆的保留,与MSCs所在基质的硬度以及培养时间呈正相关^[25]。有学者将MSCs培养于基质硬度在5~100 kPa范围内动态变化的藻酸盐基水凝胶上,进一步研究了机械记忆的作用,结果发现硬化的水凝胶(由软变硬)早期会抑制MSCs的成骨分化,而软化的水凝胶(由硬变软)早期仍能促进了MSCs的成骨分化,说明了MSCs能够在动态环境中建立机械记忆并影响未来的成骨分化,该过程还被证明了可能与miRNA-21对机械信号的调节有关^[26]。有学者设计了一款具有光响应性能够进行基质硬度转换的透明质酸水凝胶, MSCs在最初的硬基质上表现出扩展的形态和YAP/TAZ在细胞核的定位,随后MSCs形态的延伸程度和核YAP/TAZ的含量伴随着基质软化和硬化先降低后升高,结果表明MSCs形态和YAP/TAZ易位响应基质刚度的过程是可逆的^[27]。

2 支架的拓扑结构对牙周骨组织工程干细胞成骨分化的影响

基质的拓扑结构是指基质的形状、尺寸和细胞的点阵排布,目前有研究表明纳米级空间结构对细胞的表观状态、分化方向等均有影响^[8]。在基质硬度的基础上, Yang等^[28]探究了拓扑结构对干

细胞的影响,在具有较硬(约10 kPa)水凝胶上培养的MSCs表现出更大的扩散面积和核YAP积累。但是在比较硬水凝胶表面规则图案和随机图案对MSCs的成骨影响时却发现,规则图案化凝胶上的细胞分布更广,成骨标记ALP的表达更高,并且随机图案化凝胶和软水凝胶上培养的MSCs成骨分化可能受CD105表达的抑制。一项有关基质形状对成骨分化影响的研究将MSCs在圆度为1的圆和圆度为0.1带有矩形分支的圆上培养,并且对于一种类型的图案,又分别设置面积为314 μm^2 、628 μm^2 、1 256 μm^2 和2 512 μm^2 的培养基。结果发现MSCs在带有矩形分支的圆上的成骨性明显高于单纯的圆形,并且较大的扩散面积(即2 512 μm^2)提高了MSCs的存活率。其原因是较大的扩散面积增加了核面积,促进了YAP的核定位,进而增强了MSCs的成骨分化^[29]。又有实验通过设置宽度为700 nm,柱间距分别为1.2、2.4、3.6和5.6 nm的纳米柱,发现不同密度的纳米柱可影响MSCs的分化方向。其中纳米柱之间的距离越大越有利于成骨分化,距离越小越有利于脂肪形成;可能是由于细胞骨架活性的b1整联蛋白、b3整联蛋白和F-肌动蛋白的表达上调,触发了细胞骨架重组,增加了细胞硬度,从而促进其成骨分化^[30]。在纳米微孔方面,有学者设计了一款胶原蛋白海绵用于大鼠颅骨缺损的修复。该海绵是由(32.97 \pm 1.41) nm的纳米孔与(60.66 \pm 24.48) μm 的微米孔共同构成, MSCs能够通过微孔迁移到海绵中,进而被海绵中的纳米孔诱导成骨分化,发现该结构即使在不添加任何细胞或生长因子的条件下,其独特的纳米和微观形貌也能在体内驱动膜内骨化和颅骨修复^[31]。

除了表观纳米级形状可诱导MSCs成骨向分化外,不同尺寸和排列的点阵序列可以调控细胞的生物学行为。在不同直径的纳米管和双层蜂窝结构的纳米管相互比较的实验中, MSCs在蜂窝结构的粘着力最强,而较大的纳米管(直径4.51 μm)中的粘着斑显著大于较小的纳米管(直径3.65 μm 和直径2.53 μm), MSCs在较大的纳米管和双层蜂窝结构表面上的形态显著伸长,其中在蜂窝结构上形成了更长的突起,因而蜂窝结构能够诱导细胞骨架应力的增强,从而选择性成骨分化^[32]。

最近,还有研究将目光聚焦于三维支架材料, Mao等^[33]将PDLSCs分别种植在平坦表面、致密表面和纳米棒/微棒混合体的生物陶瓷上,在对比后发现PDLSCs在混合体上附着力更强,细胞质延伸

的更明显,并且细胞的肌动蛋白丝排列规则且平行于细胞的长轴;可能是由于细胞在纳米棒和微棒混合体表面的三维结构上时,细胞与生物陶瓷表面之间的接触面积增加,而PDLSCs边缘向三维纳米结构的延伸导致细胞形态扩展,附着性增强。该研究进一步发现与对照组相比,在纳米棒和微棒混合体组中的成骨特异性转录因子(*runt-related transcription factor 2, Runx2*)、碱性磷酸酶(*alkaline phosphatase, ALP*)的表达在第4天明显上升,骨钙素(*osteocalcin, OCN*)在第7天明显增强。因此,接种在混合体上的PDLSCs可通过Wnt/ β -catenin信号通路向成骨分化。有学者并未局限于对牙周骨组织修复的研究,还考虑牙骨质-牙周膜-牙槽骨复合物的重建。Liu等^[34]使用三维纳米复合水凝胶支架促进牙骨质的形成,从而将细胞和生长因子递送至兔上颌牙周缺损。该支架有三层:第一层是为牙骨质/牙本质界面设计的100 μm 微通道,第二层是为牙周膜设计的600 μm 微通道,第三层是为牙槽骨设计的300 μm 微通道。重组人类釉原蛋白、结缔组织生长因子和重组人骨形态发生蛋白2,分别在第一、二和三层中进行了空间传递和时间释放。牙髓干细胞(*dental pulp stem cells, DPSCs*)、PDLSCs和牙槽骨干/祖细胞(*alveolar bone stem/progenitor cells, ABSCs*)分别在4周的体外培养后获得了特定的组织表型。随后将具有/不具有生长因子FGF-2的三层纳米复合水凝胶支架置于兔上颌牙周缺损中。与单独使用支架相比,具有生长因子的三层纳米支架实现了完全的骨缺损闭合和愈合,形成了新的松质样组织。并在第3个月时证实了新牙骨质、纤维状牙周膜和含有骨小梁的牙槽骨的生成。

尽管已经有许多研究证明了几十纳米至几微米范围内的表面形貌显著影响干细胞的分化,但纳米形貌诱导肌动蛋白重组的潜在分子机制仍不清楚。有关拓扑结构诱导细胞分化的机制研究发现纳米形貌产生的膜曲率可以被细胞内曲率传感蛋白识别以激活包括神经Wiskott-Aldrich综合征蛋白(*neural Wiskott-Aldrich syndrome protein, N-Wasp*)、皮层肌动蛋白和Arp2/3复合物的下游信号传导,使分支的F-肌动蛋白成核,进而促进应力纤维组织和粘着斑成熟^[35]。在进一步地有关曲率对干细胞成骨分化机制的研究中发现,与光滑形貌和不规则微尺度形貌表面进行比较,带负电荷的细胞在具有微细沟槽和纳米级孔隙的分层微纳米

形貌上显示出最高的密度,从而募集更多带正电荷的锚蛋白来增强细胞粘附。其可能原因是黏着斑构建的最适平均整联蛋白间隔约为45 nm,而分层微纳米形貌的纳米孔直径约为40 nm。表面上均匀分布的纳米级特征基本上与整联蛋白的间隔分布相匹配,因此更有利于形成成熟的粘着斑,提高了细胞粘附性^[36]。该研究还进一步表明细胞的PI3K-AKT信号通路在分层微纳米形貌中被激活,并且该通路的激活同时也伴随着整联蛋白 $\alpha 2$ 的高表达。可以推断,整联蛋白 $\alpha 2$ 的强制表达可以激活PI3K-AKT信号传导途径,从而促进成骨分化^[36]。

3 机械力对牙周骨组织工程干细胞成骨分化的影响

大量体内外实验及临床实践表明,适当的机械力对牙源性干细胞成骨分化、牙槽骨和牙骨质等组织的生长与重建有着密切联系^[37]。在生理条件下、口腔治疗过程中及病理状态下,均存在对牙体组织和牙周组织的机械力。可通过对机械力施加控制,进而改变细胞分泌的信号分子来调控牙源性干细胞的成骨/破骨向分化,诱导牙周骨组织朝着预期的方向进行修复和重建再生^[38]。因此只有将机械力与支架材料的性能联动起来,才能更好地发挥支架材料在植入口腔后的作用。

在牙齿咀嚼和咬合过程中均存在对牙周组织的机械负荷。正常生理条件下,适宜的机械负荷有利于牙周组织的生长及健康。将模拟天然组织环境的机械应力条件与纳米纤维基质拓扑结构相结合,发现纳米纤维的排列能够影响PDLCS在基质上的铺展和分布。与随机排列的胶原纤维相比,定向排列的胶原纤维更能增强PDLCS的成骨分化能力。在PDLCS/纳米纤维基质上施加了在生理范围内的6%应变后,发现随着机械负荷的增加,PDLCS的成骨因子表达下降,成骨分化能力减弱,并且PDLCS的形态由非定向变为定向(双极),进而能够垂直排列在无序纳米纤维上。提示了在机械力与拓扑结构的联动作用下,PDLCS可伴随着细胞骨架排列方式的变化,调控组织的骨重塑^[39]。

缺少重力会对组织发育产生负面影响,导致肌肉和骨骼萎缩,从而造成矿物质摄入减少和矿物质吸收增加、心血管疾病以及血液循环问题^[40]。相反,通过离心模拟超重力条件下的细胞培养实验表明,超重力环境对成骨细胞生成相关基因如骨钙蛋白、维生素D受体和Runx2产生了有

利影响^[41]。有研究将MSCs在200 nm宽孔距、50 nm深、120 nm宽的纳米沟槽基底上培养,随后对其进行47 rpm离心以产生超重力。当两种刺激结合时,观察到对细胞增殖的累加效应,并且在培养7 d后增强了MSCs的矿化作用以及骨钙素 mRNA 的表达;纳米沟槽基底上细胞数量的增加可能与有丝分裂纺锤体的快速排列有关,因为有丝分裂纺锤体纤维从细胞的两个极点平行地向细胞核延伸,其中纺锤体的平行对齐对于染色体移动和细胞分裂至关重要,所以该过程的加快可以促进细胞的分裂;而细胞在7 d后的大量矿化可能是由于细胞数量增加, MSCs在超重力的作用下会增加骨钙素的表达水平,该水平的增加能够提高骨矿化的程度和维持钙离子的稳态,促进了MSCs的成骨表达^[42]。

4 总结与展望

牙周骨组织是一种由牙骨质和牙槽骨组成的复杂组织,运用于牙周骨组织工程的支架材料应具备适合细胞附着、增殖和分化的表面结构及与植入部位相匹配的机械性能^[43]。然而,现有生物材料的物理性能和空间结构与天然牙周骨组织的匹配程度仍存在差异,牙源性干细胞在移植进入需要修复的组织后常丧失活性,无法如预期启动成骨相关信号通路进行成骨向分化。并且由于体内外环境存在一定差异,在支架材料携带牙源性干细胞植入机体后,还要承受生理条件下机械力所带来的影响。因此,开发一系列能与天然组织最大化匹配、与生理状况相适应、并且能与成骨活性因子相结合的支架材料,对增强牙源性干细胞在骨组织修复中的成骨活性尤为必要。

【Author contributions】 Li TL, Chang XN, Chou XT, Fu D collected the references and wrote the article, Zhang T revised the article. All authors read and approved the final manuscript as submitted.

参考文献

- [1] Wang ZS, Feng ZH, Wu GF, et al. The use of platelet-rich fibrin combined with periodontal ligament and jaw bone mesenchymal stem cell sheets for periodontal tissue engineering[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 28126. doi: 10.1038/srep28126.
- [2] Hao Z, Song Z, Huang J, et al. The scaffold microenvironment for stem cell based bone tissue engineering[J]. *Biomater Sci*, 2017, 5 (8): 1382-1392. doi: 10.1039/c7bm00146k.
- [3] Rahmati M, Pennisi CP, Mobasheri A, et al. Bioengineered scaffolds for stem cell applications in tissue engineering and regenerative medicine[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1107: 73-89. doi: 10.1007/5584_2018_215.
- [4] Bai M, Xie J, Liu X, et al. Microenvironmental stiffness regulates dental papilla cell differentiation: implications for the importance of fibronectin-paxillin-beta-catenin axis[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(32): 26917-26927. doi: 10.1021/acsami.8b08450.
- [5] Zhou C, Wang Q, Zhang D, et al. Compliant substratum modulates vinculin expression in focal adhesion plaques in skeletal cells[J]. *Int J Oral Sci*, 2019, 11(2): 18. doi: 10.1038/s41368-019-0052-3.
- [6] Zhou C, Zhang D, Zou J, et al. Substrate compliance directs the osteogenic lineages of stem cells from the human apical papilla via the processes of mechanosensing and mechanotransduction[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(29): 26448-26459. doi: 10.1021/acsami.9b07147.
- [7] Xie J, Zhang D, Zhou C, et al. Substrate elasticity regulates adipose-derived stromal cell differentiation towards osteogenesis and adipogenesis through beta-catenin transduction[J]. *Acta Biomater*, 2018, 79: 83-95. doi: 10.1016/j.actbio.2018.08.018.
- [8] Beijer NRM, Nauryzgaliev ZM, Arteaga EM, et al. Dynamic adaptation of mesenchymal stem cell physiology upon exposure to surface micropatterns[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 9099. doi: 10.1038/s41598-019-45284-y.
- [9] Passariello C, Di Nardo D, Testarelli L. Inflammatory periimplant diseases and the periodontal connection question[J]. *Eur J Dent*, 2019, 13(1): 119-123. doi: 10.1055/s-0039-1688525.
- [10] Liu J, Li Q, Liu S, et al. Periodontal ligament stem cells in the periodontitis microenvironment are sensitive to static mechanical strain[J]. *Stem Cells Int*, 2017: 1380851. doi: 10.1155/2017/1380851.
- [11] 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. doi: 10.1002/jcp.26193.
- [12] Zhang T, Gong T, Xie J, et al. Softening substrates promote chondrocytes phenotype via RhoA/ROCK pathway[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(35): 22884-22891. doi: 10.1021/acsami.6b07097.
- [13] Zhang T, Lin S, Shao X, et al. Effect of matrix stiffness on osteoblast functionalization[J]. *Cell Prolif*, 2017, 50(3): e12338. doi: 10.1111/cpr.12338.
- [14] Tian T, Zhang T, Lin Y, et al. Vascularization in craniofacial bone tissue engineering[J]. *J Dent Res*, 2018, 97(9): 969-976. doi: 10.1177/0022034518767120.
- [15] d'Angelo M, Benedetti E, Tupone MG, et al. The Role of stiffness in cell reprogramming: a potential role for biomaterials in inducing tissue regeneration[J]. *Cells*, 2019, 8(9): 1036. doi: 10.3390/cells8091036.
- [16] Leight JL, Wozniak MA, Chen S, et al. Matrix rigidity regulates a switch between TGF-beta1-induced apoptosis and epithelial-mesenchymal transition[J]. *Mol Biol Cell*, 2012, 23(5): 781-791. doi: 10.1091/mbc.E11-06-0537.
- [17] Tse JR, Engler AJ. Stiffness gradients mimicking *in vivo* tissue variation regulate mesenchymal stem cell fate[J]. *PLoS One*, 2011, 6(1): e15978. doi: 10.1371/journal.pone.0015978.
- [18] Biggs MJP, Fernandez M, Thomas D, et al. The functional response of mesenchymal stem cells to electron-beam patterned elastomeric surfaces presenting micrometer to nanoscale heteroge-

- neous rigidity[J]. *Adv Mater*, 2017, 29(39): 1-13. doi: 10.1002/adma.201702119.
- [19] Hegedus O, Juriga D, Sipos E, et al. Free thiol groups on poly(aspartamide) based hydrogels facilitate tooth-derived progenitor cell proliferation and differentiation[J]. *PLoS One*, 2019, 14(12): e0226363. doi: 10.1371/journal.pone.0226363.
- [20] Sun M, Chi G, Xu 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. doi: 10.1186/s13287-018-0798-0.
- [21] Cosgrove BD, Mui KL, Driscoll TP, et al. N-cadherin adhesive interactions modulate matrix mechanosensing and fate commitment of mesenchymal stem cells[J]. *Nat Mater*, 2016, 15(12): 1297-1306. doi: 10.1038/nmat4725.
- [22] Driscoll TP, Cosgrove BD, Heo SJ, et al. Cytoskeletal to nuclear strain transfer regulates YAP signaling in mesenchymal stem cells [J]. *Biophys J*, 2015, 108(12): 2783-2793. doi: 10.1016/j.bpj.2015.05.010.
- [23] Totaro A, Panciera T, Piccolo S. YAP/TAZ upstream signals and downstream responses[J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(8): 888-899. doi: 10.1038/s41556-018-0142-z.
- [24] Ivanovska IL, Swift J, Spinler K, et al. Cross-linked matrix rigidity and soluble retinoids synergize in nuclear lamina regulation of stem cell differentiation[J]. *Mol Biol Cell*, 2017, 28(14): 2010-2022. doi: 10.1091/mbc.E17-01-0010.
- [25] Peng T, Liu L, MacLean AL, et al. A mathematical model of mechanotransduction reveals how mechanical memory regulates mesenchymal stem cell fate decisions[J]. *BMC Syst Biol*, 2017, 11(1): 55. doi: 10.1186/s12918-017-0429-x.
- [26] Wei D, Liu A, Sun J, et al. Mechanics-controlled dynamic cell niches guided osteogenic differentiation of stem cells *via* preserved cellular mechanical memory[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(1): 260-274. doi: 10.1021/acsami.9b18425.
- [27] Rosales AM, Vega SL, DelRio FW, et al. Hydrogels with reversible mechanics to probe dynamic cell microenvironments[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2017, 56(40): 12132-12136. doi: 10.1002/anie.201705684.
- [28] Yang C, DelRio FW, Ma H, et al. Spatially patterned matrix elasticity directs stem cell fate[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(31): e4439-e4445. doi: 10.1073/pnas.1609731113.
- [29] Jiao F, Zhao Y, Sun Q, et al. Spreading area and shape regulate the apoptosis and osteogenesis of mesenchymal stem cells on circular and branched micropatterned islands[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2020, 108(10): 2080-2089. doi: 10.1002/jbm.a.36967.
- [30] Ahn EH, Kim Y, Kshitiz, et al. Spatial control of adult stem cell fate using nanotopographic cues[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(8): 2401-2410. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.11.037.
- [31] Vordemvenne T, Wahnert D, Koettnitz J, et al. Bone regeneration: a novel osteoinductive function of spongostan by the interplay between its nano- and microtopography[J]. *Cells*, 2020, 9(3): 654. doi: 10.3390/cells9030654.
- [32] Steeves AJ, Ho W, Munisso MC, et al. The implication of spatial statistics in human mesenchymal stem cell response to nanotubular architectures[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 2151-2169. doi: 10.2147/IJN.S238280.
- [33] Mao L, Liu J, Zhao J, et al. Effect of micro-nano-hybrid structured hydroxyapatite bioceramics on osteogenic and cementogenic differentiation of human periodontal ligament stem cell *via* Wnt signaling pathway[J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10: 7031-7044. doi: 10.2147/IJN.S90343.
- [34] Liu J, Ruan J, Weir MD, et al. Periodontal bone-ligament-cementum regeneration *via* scaffolds and stem cells[J]. *Cells*, 2019, 8(6): 537. doi: 10.3390/cells8060537.
- [35] Lou HY, Zhao W, Li X, et al. Membrane curvature underlies actin reorganization in response to nanoscale surface topography[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(46): 23143-23151. doi: 10.1073/pnas.1910166116.
- [36] Zheng H, Tian Y, Gao Q, et al. Hierarchical micro-nano topography promotes cell adhesion and osteogenic differentiation *via* integrin alpha2-PI3K-AKT signaling axis[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 463. doi: 10.3389/fbioe.2020.00463.
- [37] He D, Liu F, Cui S, et al. Mechanical load-induced H2S production by periodontal ligament stem cells activates M1 macrophages to promote bone remodeling and tooth movement *via* STAT1[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 112. doi: 10.1186/s13287-020-01607-9.
- [38] Ullrich N, Schroder A, Jantsch J, et al. The role of mechanotransduction versus hypoxia during simulated orthodontic compressive strain-an *in vitro* study of human periodontal ligament fibroblasts [J]. *Int J Oral Sci*, 2019, 11(4): 33. doi: 10.1038/s41368-019-0066-x.
- [39] Kim JH, Kang MS, Eltohamy M, et al. Dynamic mechanical and nanofibrous topological combinatory cues designed for periodontal ligament engineering[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0149967. doi: 10.1371/journal.pone.0149967.
- [40] Alvarez R, Stork CA, Sayoc-Becerra A, et al. A simulated microgravity environment causes a sustained defect in epithelial barrier function[J]. *Sci Rep*, 2019, 9: 17531. doi: 10.1038/s41598-019-53862-3.
- [41] Tominari T, Ichimaru R, Taniguchi K, et al. Hypergravity and microgravity exhibited reversal effects on the bone and muscle mass in mice[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 6614. doi: 10.1038/s41598-019-42829-z.
- [42] Prodanov L, van Loon JJ, te Riet J, et al. Substrate nanotexture and hypergravity through centrifugation enhance initial osteoblastogenesis[J]. *Tissue Eng Part A*, 2013, 19(1/2): 114-124. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0267.
- [43] Botelho J, Cavacas MA, Machado V, et al. Dental stem cells: recent progresses in tissue engineering and regenerative medicine [J]. *Ann Med*, 2017, 49(8): 644-651. doi: 10.1080/07853890.2017.1347705.

(编辑 张琳)



官网



公众号