

细胞趋硬性迁移的研究进展*

杨月华, 姜洪源

(中国科学技术大学 工程科学学院 近代力学系 中国科学院材料力学行为和设计重点实验室, 合肥 230026)

摘要: 细胞力学微环境可以调控许多细胞生理功能. 特别地, 在细胞力学微环境各种信号梯度的作用下, 细胞可以定向地迁移. 这些定向迁移可以显著影响伤口愈合、癌细胞转移和组织形貌发育等生理过程. 目前为止, 细胞的定向迁移主要包括: 在化学药物梯度作用下的趋药性迁移, 在黏附分子梯度作用下的趋触性迁移, 以及在细胞外基质硬度梯度作用下的趋硬性迁移等. 虽然细胞趋药性和趋触性迁移的力学机理得到了很好的研究, 但是关于细胞趋硬性迁移的机制和作用还不清楚. 该文重点介绍了细胞趋硬性的相关实验和理论研究进展, 分析了不同研究间的联系与区别, 讨论了细胞趋硬性迁移的潜在力学机制, 提出尚存在的问题和未来可能的研究方向.

关键词: 细胞力学微环境; 细胞定向迁移; 趋硬性迁移; 体积变化; 细胞极性
中图分类号: O3 **文献标志码:** A **DOI:** 10.21656/1000-0887.420265

Research Advances in Cell Durotaxis

YANG Yuehua, JIANG Hongyuan

(CAS Key Laboratory of Mechanical Behavior and Design of Materials,
Department of Modern Mechanics, School of Engineering Science,
University of Science and Technology of China, Hefei 230026, P.R.China)

Abstract: The cellular mechanical microenvironment can regulate many cellular physiological functions. In particular, cells can migrate directionally under external cue gradients from their mechanical microenvironment. These directed migrations play critical roles in wound healing, cancer cell metastasis and tissue morphology development. So far, directional cell migration mostly includes: the directional migration under chemical gradients (chemotaxis), the directional migration under adhesion gradients (haptotaxis), and the directional migration under mechanical gradients (durotaxis). Although the basic mechanisms of chemotaxis and haptotaxis are well characterized, the mechanism of durotaxis remains unclear. In this review, the experimental and theoretical advances in the study of cell durotaxis were described, the connections and differences among different studies were analyzed, the potential mechanical mechanism of cell durotaxis were discussed, and the remaining problems and possible future research directions were put forward.

Key words: cellular mechanical microenvironment; directional cell migration; cell durotaxis; volume regulation; cell polarity

* 收稿日期: 2021-09-03; 修订日期: 2021-09-10

基金项目: 国家自然科学基金(12002338;12025207;11872357);安徽省自然科学基金(2008085QA24);统筹推进世界一流大学和一流学科建设专项资金(YD2480002001);中国科学院战略性先导研究项目(XDB22040403);中央高校基本科研业务费(WK2090000017;WK2090050048;WK2480000006)

作者简介: 杨月华(1992—),男,特任副研究员(E-mail: hz293033@ustc.edu.cn);
姜洪源(1979—),男,教授,博士生导师(通讯作者). E-mail: jianghy@ustc.edu.cn.

引用格式: 杨月华, 姜洪源. 细胞趋硬性迁移的研究进展[J]. 应用数学和力学, 2021, 42(10): 999-1007.

引言

生物体内的细胞时时刻刻都处于迁移中,而定向迁移是细胞迁移的主要形式之一.因此,细胞的定向迁移在许多生理和病理过程中都起着重要作用^[1-2].例如,在组织形态发育和伤口愈合的过程中,细胞需要定向地迁移,以引导组织形态变化和伤口愈合.血管初始管状结构的形成过程依赖于上皮细胞在生长因子浓度梯度等化学因素作用下的定向迁移.神经元细胞定向迁移的缺陷会阻碍神经系统的发育和再生^[3].细胞定向迁移在免疫应答过程中也发挥关键作用,其异常会引发慢性炎症.此外,细胞定向迁移还与许多肿瘤细胞的侵袭紧密相关^[4].为了定向地迁移,细胞外基质需要对细胞施加一定的推力,推动细胞向前运动,因此机械力在细胞定向迁移中起着重要作用.为了深入理解和调控伤口愈合、组织发育和肿瘤细胞侵袭等生理过程,十分有必要研究细胞定向迁移的潜在力学机制.

细胞微环境的化学和物理梯度都能驱使细胞定向地迁移.有研究表明,细胞在外界药物浓度梯度^[5](趋药性)和基底配体密度梯度^[6-8](趋触性)的诱导下都可以定向迁移.此外,生物体内的某些病变过程,如肿瘤恶化和组织纤维化,会使得生物体内组织表面存在硬度梯度^[9].而在硬度梯度的作用下,细胞会向硬度较大区域定向迁移^[10-13],这个过程被称为细胞的趋硬性迁移,这一力学感应现象在近二十年成为了生物力学的前沿领域.虽然细胞趋药性和趋触性迁移的力学机理得到了很好的研究,但是关于细胞趋硬性迁移的机制和作用还不清楚.本文首先介绍细胞趋硬性的相关实验研究和潜在的分子机制,接着介绍理论模型方面的研究进展,最后提出尚存在的问题和未来可能的研究方向.

1 细胞趋硬性迁移的实验研究

目前关于细胞趋硬性的研究主要集中在体外研究,主要可以分为单细胞的趋硬性研究和群体细胞的趋硬性研究.在这些研究中,细胞一般是培养在具有硬度梯度的基底上,进而实时观测细胞的迁移行为.实验中可通过细胞的迁移方向以及趋硬指数(硬度梯度方向上的位移与细胞迁移总路程的比值)来量化细胞趋硬性迁移的程度.

1.1 硬度梯度基底的制作方法

为了探究细胞在硬度梯度下的迁移行为,研究者们需要构建出具有硬度梯度的细胞微环境.由于其优良的生物相容性,水凝胶是最常见的用于体外培养细胞的细胞外基质,其中最常用的是聚丙烯酰胺水凝胶,也称为PA胶.通过调节PA胶聚合单体与其交联剂的质量比,可以很好地调控PA胶的硬度,交联剂比例越大,PA胶的硬度越大.最开始,研究者们是将两滴含有不同交联比的PA胶溶液相邻放置、聚合,制作出硬度突变的两个区域^[10].这种方法只能制作硬度梯度突变的基底,无法制作硬度光滑变化的基底.为了克服这一难点,研究者们通过微流体装置将不同浓度的PA胶溶液均匀混合,制作出光滑的硬度梯度^[14].但是这种方法可以制作的硬度梯度范围比较有限,而且费时、费力、成本昂贵.最近,我们借鉴前期不同制作方法的优点,设计了一个简洁、方便的制作光滑硬度梯度的实验方法^[15].该方法的主要思路是:将两种含有不同PA胶单体/交联剂质量比的溶液分别滴加在亲水的哑铃状图案两端,在表面张力的驱动下,这两种溶液会相对扩散,进而在哑铃状图案的细长条带区域接触、混合,最后聚合成哑铃状的PA胶(图1).通过控制哑铃状图案两端PA胶单体/交联剂比例的差值(控制PA胶的硬度差值 $E_H - E_L$),以及哑铃状图案细长条带区域的长度 L ,就可以在细长条带区域内制作出合适硬度梯度和硬度范围的PA胶基底.

1.2 单细胞的趋硬性迁移

早期关于细胞趋硬性的研究大多集中在单细胞研究.在2000年,Lo研究组将纤维母细胞培养在软硬交界的PA胶基底上(基底硬度突变),发现纤维母细胞从软基底侧向界面迁移时可以轻易地跨过硬度界面迁移到硬基底一侧(图2(a));而纤维母细胞从硬基底侧向硬度界面迁移时,在碰到界面后细胞会转向或者沿着界面迁移(图2(b))^[10].他们将这种细胞倾向于迁移到硬基底的定向迁移称为“趋硬性迁移”.后来研究者们发现许多不同的细胞种类都会展现出趋硬性迁移,包括血管平滑肌细胞^[13,16-17]、干细胞^[12,18-19]、肿瘤细胞^[11,20-22].虽然大多细胞在具有硬度梯度的基底上都倾向于往硬度较大的区域迁移,但是也存在某些细胞倾向于向硬度较小的区域迁移,这种反常的趋硬性迁移被称为“负趋硬性”^[23].即使目前有大量的研究表明细

胞在体外会出现趋硬性,体内的细胞是否也会出现趋硬性迁移仍是不确定的。

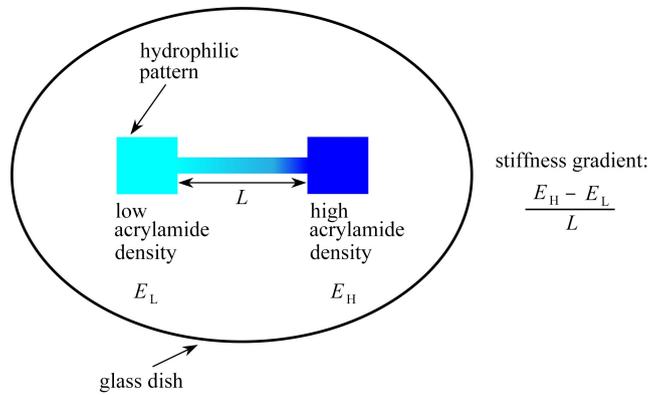
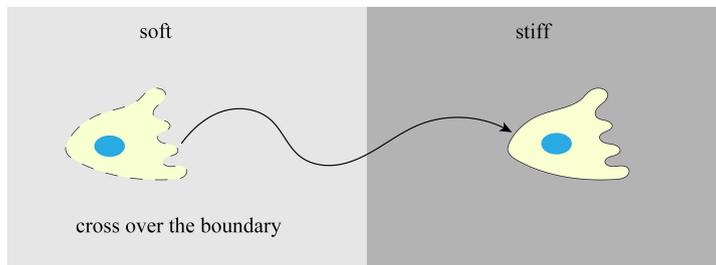


图 1 基于溶液扩散制作可控的光滑硬度梯度 PA 胶基底

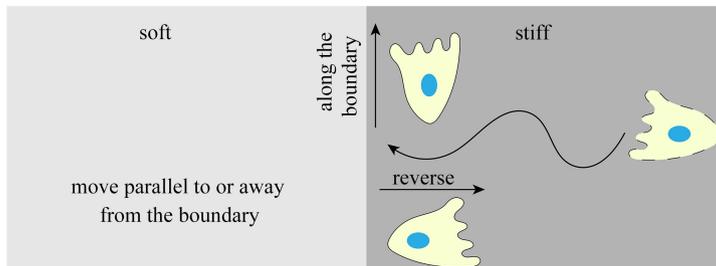
Fig. 1 Schematic diagram of producing PA gel with controllable smooth rigidity gradients

后来研究者们发现,细胞的趋硬性迁移还显著地依赖于基底硬度梯度的大小.波士顿大学的 Isenberg 和 Wong 等发现,基底的硬度梯度值越大,血管平滑肌细胞的趋硬性迁移越明显.平滑肌细胞的迁移速度和趋硬指数(硬度梯度方向上的位移除以细胞迁移的总路程)都随硬度梯度值增大^[17].后来,加利福尼亚大学的 Vincent 和 Engler 等也进一步证实了这一结论,他们发现间充质干细胞的趋硬指数也正比于基底的硬度梯度值^[12].但是,悉尼大学的 Hadden 和 Choi 等发现,当基底硬度梯度小于 2.9 kPa/mm 时,人类的脂肪干细胞不会出现趋硬性^[19].即使细胞的趋硬指数和迁移速度与基底硬度梯度成正比,细胞的迁移速度和趋硬指数不依赖于细胞所处位置局部基底硬度.反之,细胞的黏附形貌则与细胞所处位置的局部基底硬度相关^[17].最近有研究表明,细胞的趋硬性还依赖于基底表面修饰的黏附蛋白种类.血管平滑肌细胞在表面修饰着纤连蛋白(fibronectin)的基底上会有趋硬性,而在表面修饰着层连蛋白(laminin)的基底上不会有趋硬性^[13].基底表面修饰蛋白种类对细胞趋硬性的调控机理目前还不清楚。



(a) 细胞从软基底一侧向软/硬界面迁移时,可以跨过硬度界面进入硬基底一侧

(a) When moving from the soft side of the substrate toward the boundary, the cell can cross over the boundary



(b) 细胞从硬基底一侧向软/硬界面迁移时,细胞迁移会转向或沿着界面迁移

(b) When moving from the stiff side of the substrate toward the boundary, the cell will reverse its direction or move along the boundary

图 2 细胞倾向于向硬基底迁移

Fig. 2 Cells prefer to migrate toward stiffer substrate

1.3 群体细胞的趋硬性迁移

对某些细胞种类,即使单细胞在具有硬度梯度的基底上不出现趋硬性,其群体细胞仍然可以出现趋硬性^[24-26].因为群体细胞在硬度梯度基底上可以横跨更大的区域,因此,群体细胞在其前端和后端可以感受到更大的硬度差异,进而可以更有效地感知和响应基底的硬度梯度.此外,群体细胞还可以通过细胞间的紧密连接进行细胞间机械力的长程传递^[24].

1.4 细胞趋硬性迁移与体积变化的相关性

有许多研究表明,基底的硬度可以显著地影响细胞的许多生理功能,比如细胞的铺展^[27]、增殖^[28-29]、分化^[30-31]等.最近我们研究发现,基底力学性质和物理性质的改变还能够引起细胞体积的明显变化^[32].细胞黏附到基底上时,细胞体积随着细胞铺展面积的增大而指数地减小(图3(a)).同时黏附稳定后的体积会随着基底硬度的增大而减小,当PDMS基底的硬度从100 kPa增大到约1 MPa时,细胞体积可以从约3 500 μm^3 减小到约1 500 μm^3 ,体积减小了约50%.此外,我们还发现,通过调节基底的黏附能密度或者有效黏附能密度也可以显著地调控黏附细胞的体积大小.根据我们前期关于细胞体积调控机制的研究,我们猜测细胞黏附导致体积收缩主要原因是细胞收缩力增大而将水和离子挤出细胞外.我们进一步通过药物抑制实验证实了这一猜想,因此我们将与基底黏附导致的细胞体积收缩称为“黏附引起的细胞压缩”(图3(b)).细胞内部本身是一个十分拥挤的环境,与基底黏附导致的细胞体积收缩必然会使得细胞内部更加拥挤.因此细胞的许多生理功能,如蛋白质折叠、细胞新陈代谢、基因表达、增殖、分化和细胞的力学性质,都会显著地受到黏附引起的体积收缩影响.

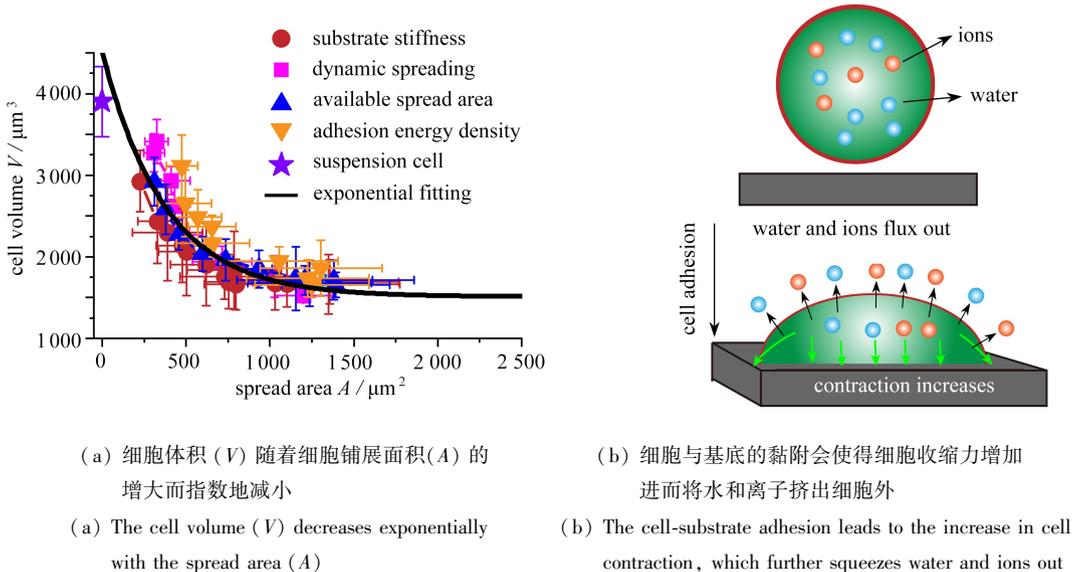


图3 细胞与基底黏附导致的细胞压缩

Fig. 3 The mechanism of adhesion-induced compression of cells

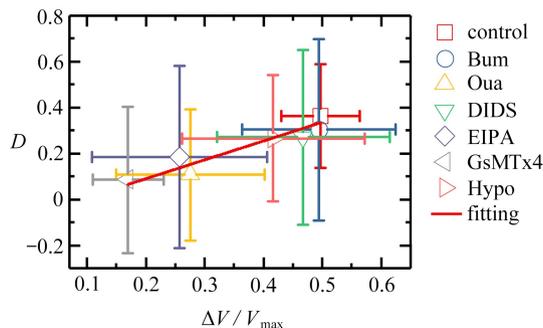


图4 细胞的趋硬指数 (D) 正比于细胞体积的减小幅度 ($\Delta V / V_{\max}$)

Fig. 4 The durotaxis index (D) scales with the amplitude of cellular volume decrease ($\Delta V / V_{\max}$)

在细胞趋硬性迁移过程中,细胞感受到的局部基底硬度也不断变化.因此在细胞趋硬性迁移过程中,细胞体积也有可能发生明显变化.我们最近的研究表明,3T3 纤维母细胞在硬度范围为 8~80 kPa 的梯度 PA 胶上迁移时,随着细胞向基底较硬区域迁移,细胞体积可以减小约 40%^[15].而且我们还发现细胞的趋硬指数与细胞体积的减小幅度成线性关系.这一结果表明,细胞体积收缩的程度越大,细胞趋硬程度越强(图 4).图中 Bum 表示 $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ 协同转运蛋白抑制剂,Oua 表示 Na^+/K^+ ATPas 抑制剂,DIDS 表示 $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ 交换器抑制剂,EIPA 表示 Na^+/H^+ 交换蛋白抑制剂,GsMTx4 表示力敏感通道抑制剂,Hypo 表示低渗刺激,红色直线是线性拟合.这也意味着细胞体积调控可能是细胞趋硬性迁移的潜在机制之一.

2 细胞趋硬性迁移的分子机制

为了在硬度梯度下定向地迁移,细胞需要首先感受到细胞前后端基底硬度的差异,接着在硬度梯度方向上产生极化,最后沿着硬度梯度的方向定向迁移.目前,我们关于细胞趋硬性迁移分子机制的认知基本全来自于体外研究.细胞刚开始黏附到具有硬度梯度的基底上时处于未极化状态.为了探测基底的硬度梯度,细胞会形成含有大量肌动蛋白微丝的突起(actin protrusions),包括丝状伪足(filopodia)和板状伪足(lamellipodia).当肌动蛋白微丝突起向外延伸时,会在细胞-基底界面处形成黏着斑复合物(focal adhesion complex),肌球蛋白马达 myosin-II 的收缩会使得黏着斑复合物拉伸基底变形,反之基底会对黏着斑复合物施加反作用力.基底的变形程度可以决定细胞的响应行为.在基底较硬一侧的伪足会受到较大的变形阻碍和拉力,促使黏着斑复合物变成成熟的黏着斑(focal adhesion),进而稳定伪足与基底的黏附结构,使得细胞能够对基底施加更大的牵引力^[33-35].这种正反馈机制会促进 Arp2/3 和 Rac1-介导的肌动蛋白微丝聚合,进而促使肌动蛋白微丝突起演变为板状伪足.此外,硬基底还可以引起 myosin II A 的去磷酸化,从而导致细胞前端出现应力纤维的聚集而在细胞后端产生 myosin II B 的聚集^[36-37].反之,在基底硬度较软一侧,黏着斑复合物受到的拉力较小,导致黏着斑复合物无法转变为成熟的黏着斑而解聚,肌动蛋白微丝突起会回缩.因此,在硬度梯度基底上,就会形成不对称的黏附分布和牵引力分布^[38-40],进而促使细胞趋硬性迁移.我们近期的研究还表明,细胞膜上的力敏感离子通道在细胞感知基底硬度梯度中起关键作用.在使用 GsMTx4 抑制了力敏感离子通道的活性之后,3T3 纤维母细胞在具有硬度梯度的 PA 胶基底上会从趋硬的定性迁移转变为无规则的随机运动^[15].同时,我们还发现抑制了 Na^+/K^+ ATPas 和 Na^+/H^+ 交换器(Na^+/H^+ exchanger)后纤维母细胞的趋硬指数也会显著下降.

细胞膜张力在维持细胞极性中也起着重要作用^[41-43].迁移细胞前端的张力大于细胞后端的张力^[44],这种张力极性会使得细胞膜小窝在细胞后端聚集.细胞膜小窝在后端的聚集会招募 RhoA、GEF、Ect2 等来激活 RhoA 进而促使细胞回缩^[45].而细胞前端较大的膜张力可以使得力敏感通道打开,如 Piezo 和 TRPM7 通道,导致钙离子的内流,进而调节细胞的前端的收缩力、调控伪足的形成^[46]和细胞的转向^[47].最近还有研究表明,细胞的趋硬指数正比于细胞在硬基底一侧与软基底一侧的张力比值^[15].

3 细胞趋硬性迁移的理论模型

目前已有不少理论模型可以用来解释细胞沿硬度梯度迁移的物理机制.这些物理模型不关注具体的分子细节,而是探究黏着斑和牵引力的大小和分布以及基底的变形等如何引起细胞趋硬性迁移.

现有的理论模型大致可以分为三类.第一类模型是随机行走模型,这些模型将细胞的迁移过程视为随机行走过程,也就是细胞极化之后沿着某个方向迁移一定的距离,之后转向沿着新方向迁移.基于实验中观测到细胞在硬基底上迁移的方向性越好^[37,48-50],这可能是由于细胞在硬基底上细胞形貌的极化越严重从而增强了黏着斑的极化分化^[51].在随机行走模型中引入细胞迁移持续时间正比于基底硬度的假设,可以使得细胞出现趋硬性迁移^[52-53].

第二类模型主要是从细胞-基底间黏附强度的极性分布来解释细胞的趋硬性迁移.这类模型早期是用于解释细胞迁移速度与黏附强度的两相关系^[54]:当细胞-基底间黏附比较弱时,细胞与基底间无法形成较好的黏附,基底对细胞的牵引力很小,细胞没有足够大的迁移驱动力;而细胞-基底间黏附比较强时,牵引力无法

克服细胞-基底间的黏附,细胞难以迁移.因此存在一个最优的细胞-基底间黏附强度,使得牵引力和黏附力之间能达到微妙的平衡,细胞的迁移速度最快.后来,研究者们将黏着斑的热力学反应特性加入到这个模型中:在受到力的作用后(即基底较硬)黏着斑可以自发聚合和伸长;而当作用力减小时(即基底较软),黏着斑会解聚^[55].例如,应力纤维的收缩力可以使得黏着斑聚合的化学势垒降低,进而促进黏着斑的成熟化^[56].由于黏着斑与牵引力间的这种耦合关系,同时迁移细胞前端的收缩力远大于细胞后端^[57],因此相对于细胞后端,细胞前端(基底硬度较硬一侧)会出现更多、更大以及更成熟的黏着斑,使得细胞前端的黏附强度大于细胞后端.这种细胞前后端黏附强度的极性分布使得细胞向前迁移^[57-60].

第三类模型主要是基于“马达-离合器”模型(motor-clutch),其中细胞内部的分子马达如肌球蛋白 myosin II 可以通过肌动蛋白微丝和分子离合器整合素将收缩力传递到基底上^[61-63].细胞会施加相同的收缩力到细胞前后两端的黏着斑上,但是由于基底硬度梯度的存在,在较软一侧的基底位移大于较硬一侧的基底位移,因此导致细胞中心整体向基底较硬一侧偏移^[24,59](图5).肌球蛋白马达 myosin 产生的收缩力还会引起 actin 的回流,在细胞前端 actin 聚合的速度大于回流的速度进而细胞形成 actin 突起;而在细胞后端,actin 的聚合速度小于其回流速度,细胞后端会回缩.马达-离合器模型也可以用来解释群体细胞的趋硬性迁移^[24].细胞群体同样可以通过肌动蛋白丝产生收缩力拉伸基底,与单细胞最大的区别在于群体细胞的收缩力可以通过细胞间的连接以及细胞骨架传递到整个细胞群体.同时由于细胞群体具有更大的空间跨度,其感受基底硬度梯度的能力远大于单个细胞.

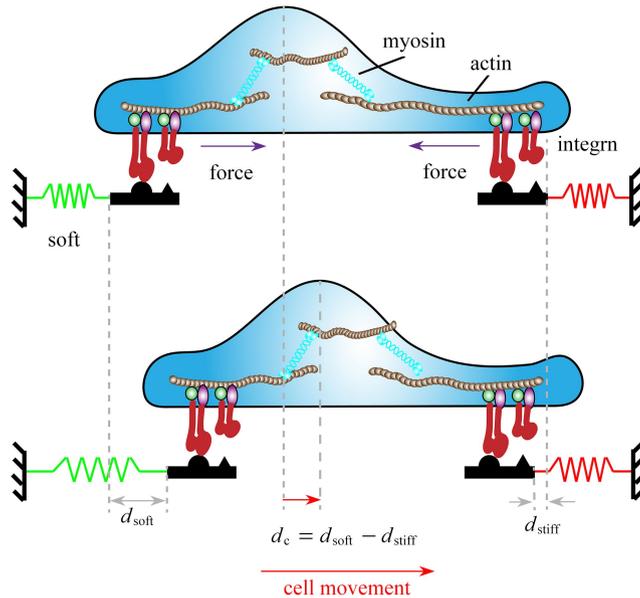


图5 马达-离合器模型

Fig. 5 The motor-clutch model

4 展 望

大量的研究表明,许多种类的单细胞以及群体细胞都可以趋硬性迁移.然而,目前我们对细胞趋硬性迁移力学机制的了解还很不清楚.影响细胞趋硬性迁移的关键影响因素包括:细胞-基底间的黏附、细胞骨架和细胞-细胞间的黏附等,这些不同的因素如何协同合作还需要进一步的研究.为了解决这些难题,我们需要将理论模型和分子实验有机结合来揭示细胞趋硬性迁移的分子机制.实验研究表明,有些细胞趋向于沿着硬度梯度迁移而有些细胞则逆着硬度梯度迁移,那么这两种互相矛盾的定向迁移背后的物理机制是什么?此外,既然细胞趋硬过程中细胞体积会发现明显变化,细胞体积与细胞趋硬性之间是否存在因果关系?何为因何为果?这些问题都有待进一步的研究.

更为重要的问题是:细胞趋硬性迁移在体内是否存在?如果存在,细胞趋硬性迁移在伤口愈合、组织发育、疾病发生等生理过程中起到什么作用?鉴于体外很多细胞都会出现细胞趋硬性迁移,而且越来越多的研

究表明体内器官表面存在硬度梯度,我们猜测体内细胞也会存在趋硬性迁移,因此研究体内细胞的趋硬性迁移是未来一个具有重要意义的研究方向.此外,体内的细胞会同时面临各种来自于微环境的刺激,包括化学的、力学的、电学的,这些刺激如何协同控制细胞迁移?他们是互相竞争还是互利同赢?目前,在体内研究细胞趋硬性迁移主要存在两个难点.第一个是:如何测量和调控体内组织的硬度梯度,以便明确硬度梯度在细胞迁移中的作用.第二个是:如何精确地监测细胞在体内的迁移行为.解决这两方面的技术难题将为研究细胞体内的趋硬性迁移奠定坚实的基础.

参考文献(References):

- [1] FRIEDL P, GILMOUR D. Collective cell migration in morphogenesis, regeneration and cancer[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2009, **10**(7): 445-457.
- [2] ROCA-CUSACHS P, SUNYER R, TREPAT X. Mechanical guidance of cell migration: lessons from chemotaxis [J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2013, **25**(5): 543-549.
- [3] KOSER D E, THOMPSON A J, FOSTER S K, et al. Mechanosensing is critical for axon growth in the developing brain[J]. *Nature Neuroscience*, 2016, **19**(12): 1592-1598.
- [4] TOZLUOĞLU M, TOURNIER A L, JENKINS R P, et al. Matrix geometry determines optimal cancer cell migration strategy and modulates response to interventions[J]. *Nature Cell Biology*, 2013, **15**(7): 751-762.
- [5] DONÀ E, BARRY J D, VALENTIN G, et al. Directional tissue migration through a self-generated chemokine gradient[J]. *Nature*, 2013, **503**: 285-289.
- [6] GUNAWAN R C, SILVESTRE J, GASKINS H R, et al. Cell migration and polarity on microfabricated gradients of extracellular matrix proteins[J]. *Langmuir*, 2006, **22**(9): 4250-4258.
- [7] WEBER M, HAUSCHILD R, SCHWARZ J, et al. Interstitial dendritic cell guidance by haptotactic chemokine gradients[J]. *Science*, 2013, **339**(6117): 328-332.
- [8] SMITH J T, TOMFOHR J K, WELLS M C, et al. Measurement of cell migration on surface-bound fibronectin gradients[J]. *Langmuir*, 2004, **20**(19): 8279-8286.
- [9] ZHU M, TAO H, SAMANI M, et al. Spatial mapping of tissue properties in vivo reveals a 3D stiffness gradient in the mouse limb bud[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2020, **117**(9): 4781-4791.
- [10] LO C M, WANG H B, DEMBO M, et al. Cell movement is guided by the rigidity of the substrate[J]. *Biophysical Journal*, 2000, **79**(1): 144-152.
- [11] DUCHEZ B J, DOYLE A D, DIMITRIADIS E K, et al. Durotaxis by human cancer cells[J]. *Biophysical Journal*, 2019, **116**(4): 670-683.
- [12] VINCENT L G, CHOI Y S, ALONSO-LATORRE B, et al. Mesenchymal stem cell durotaxis depends on substrate stiffness gradient strength[J]. *Biotechnology Journal*, 2013, **8**(4): 472-484.
- [13] HARTMAN C D, ISENBERG B C, CHUA S G, et al. Vascular smooth muscle cell durotaxis depends on extracellular matrix composition[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, **113**(40): 11190-11195.
- [14] ZAARI N, RAJAGOPALAN P, KIM S K, et al. Photopolymerization in microfluidic gradient generators: microscale control of substrate compliance to manipulate cell response[J]. *Advanced Materials*, 2004, **16**(23/24): 2133-2137.
- [15] YANG Y, XIE K, JIANG H. Durotaxis index of 3T3 fibroblast cells scales with stiff-to-soft membrane tension polarity[J]. *Biophysical Journal*, 2020, **119**(7): 1427-1438.
- [16] WONG J Y, VELASCO A, RAJAGOPALAN P, et al. Directed movement of vascular smooth muscle cells on gradient-compliant hydrogels[J]. *Langmuir*, 2003, **19**(5): 1908-1913.
- [17] ISENBERG B C, DIMILLA P A, WALKER M, et al. Vascular smooth muscle cell durotaxis depends on substrate stiffness gradient strength[J]. *Biophysical Journal*, 2009, **97**(5): 1313-1322.
- [18] CHOI Y S, VINCENT L G, LEE A R, et al. The alignment and fusion assembly of adipose-derived stem cells on mechanically patterned matrices[J]. *Biomaterials*, 2012, **33**(29): 6943-6951.
- [19] HADDEN W J, YOUNG J L, HOLLE A W, et al. Stem cell migration and mechanotransduction on linear stiff-

- ness gradient hydrogels[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2017, **114**(22): 5647-5652.
- [20] MCKENZIE A J, HICKS S R, SVEC K V, et al. The mechanical microenvironment regulates ovarian cancer cell morphology, migration, and spheroid disaggregation[J]. *Scientific Reports*, 2018, **8**(1): 7228.
- [21] LACHOWSKI D, CORTES E, PINK D, et al. Substrate rigidity controls activation and durotaxis in pancreatic stellate cells[J]. *Scientific Reports*, 2017, **7**(1): 2506.
- [22] LEVENTAL K R, YU H, KASS L, et al. Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling[J]. *Cell*, 2009, **139**(5): 891-906.
- [23] ISOMURSU A, PARK K-Y, HOU J, et al. Negative durotaxis: cell movement toward softer environments[R]. 2020. DOI: 10.1101/2020.10.27.357178.
- [24] SUNYER R, CONTE V, ESCRIBANO J, et al. Collective cell durotaxis emerges from long-range intercellular force transmission[J]. *Science*, 2016, **353**(6304): 1157-1161.
- [25] MARTINEZ J S, SCHLENOFF J B, KELLER T C S. Collective epithelial cell sheet adhesion and migration on polyelectrolyte multilayers with uniform and gradients of compliance[J]. *Experimental Cell Research*, 2016, **346**(1): 17-29.
- [26] SUNYER R, TREPAT X. Durotaxis[J]. *Current Biology*, 2020, **30**(9): R383-R387.
- [27] TEE S-Y, FU J, CHEN C S, et al. Cell shape and substrate rigidity both regulate cell stiffness[J]. *Biophysical Journal*, 2011, **100**(5): L25-L27.
- [28] LEIPZIG N D, SHOICHET M S. The effect of substrate stiffness on adult neural stem cell behavior[J]. *Biomaterials*, 2009, **30**(36): 6867-6878.
- [29] LIU N, ZHOU M, ZHANG Q, et al. Effect of substrate stiffness on proliferation and differentiation of periodontal ligament stem cells[J]. *Cell Proliferation*, 2018, **51**(5): 12478.
- [30] ENGLER A J, SEN S, SWEENEY H L, et al. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification[J]. *Cell*, 2006, **126**(4): 677-689.
- [31] CHAUDHURI O, GU L, KLUMPERS D, et al. Hydrogels with tunable stress relaxation regulate stem cell fate and activity[J]. *Nature Materials*, 2016, **15**(3): 326-334.
- [32] XIE K, YANG Y, JIANG H. Controlling cellular volume via mechanical and physical properties of substrate [J]. *Biophysical Journal*, 2018, **114**(3): 675-687.
- [33] GALBRAITH C G, YAMADA K M, GALBRAITH J A. Polymerizing actin fibers position integrins primed to probe for adhesion sites[J]. *Science*, 2007, **315**(5814): 992-995.
- [34] KAWANO T, KIDOAKI S. Elasticity boundary conditions required for cell mechanotaxis on microelastically-patterned gels[J]. *Biomaterials*, 2011, **32**(11): 2725-2733.
- [35] WONG S, GUO W H, WANG Y L. Fibroblasts probe substrate rigidity with filopodia extensions before occupying an area[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, **111**(48): 17176-17181.
- [36] CHAO P G, SHENG S C, CHANG W R. Micro-composite substrates for the study of cell-matrix mechanical interactions[J]. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2014, **38**: 232-241.
- [37] RAAB M, SWIFT J, DINGAL P C D P, et al. Crawling from soft to stiff matrix polarizes the cytoskeleton and phosphoregulates myosin- II heavy chain[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2012, **199**(4): 669-683.
- [38] BRECKENRIDGE M T, DESAI R A, YANG M T, et al. Substrates with engineered step changes in rigidity induce traction force polarity and durotaxis[J]. *Cellular and Molecular Bioengineering*, 2014, **7**: 26-34.
- [39] HAN S J. Spatial and temporal coordination of traction forces in one-dimensional cell migration[J]. *Cell Adhesion & Migration*, 2016, **10**(5): 529-539.
- [40] WANG H B, DEMBO M, HANKS S K, et al. Focal adhesion kinase is involved in mechanosensing during fibroblast migration[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, **98**(20): 11295-11300.
- [41] ZMURCHOK C, COLLETE J, RAJAGOPAL V, et al. Membrane tension can enhance adaptation to maintain polarity of migrating cells[J]. *Biophysical Journal*, 2020, **119**(8): 1617-1629.
- [42] WINKLER B, ARANSON I S, ZIEBERT F. Membrane tension feedback on shape and motility of eukaryotic cells[J]. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 2016, **318/319**: 26-33.
- [43] HOUK A R, JILKINE A, MEJEAN C O, et al. Membrane tension maintains cell polarity by confining signals to

- the leading edge during neutrophil migration[J]. *Cell*, 2012, **148**(1/2): 175-188.
- [44] LIEBER A D, SCHWEITZER Y, KOZLOV M M, et al. Front-to-rear membrane tension gradient in rapidly moving cells[J]. *Biophysical Journal*, 2015, **108**(7): 1599-1603.
- [45] HETMANSKI J H R, DE BELLY H, BUSNELLI I, et al. Membrane tension orchestrates rear retraction in matrix-directed cell migration[J]. *Developmental Cell*, 2019, **51**(4): 460-475.
- [46] BATCHELDER E L, HOLLOPETER G, CAMPILLO C, et al. Membrane tension regulates motility by controlling lamellipodium organization[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, **108**(28): 11429-11434.
- [47] WEI C, WANG X, ZHENG M, et al. Calcium gradients underlying cell migration[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2012, **24**(2): 254-261.
- [48] MISSIRLIS D, SPATZ J P. Combined effects of PEG hydrogel elasticity and cell-adhesive coating on fibroblast adhesion and persistent migration[J]. *Biomacromolecules*, 2014, **15**(1): 195-205.
- [49] MAIURI P, RUPPRECHT J-F, WIESER S, et al. Actin flows mediate a universal coupling between cell speed and cell persistence[J]. *Cell*, 2015, **161**(2): 374-386.
- [50] HOUSE D, WALKER M L, WU Z, et al. Tracking of cell populations to understand their spatio-temporal behavior in response to physical stimuli[J]. *IEEE*, 2009, **978**(1): 187-193.
- [51] YU G, FENG J, MAN H, et al. Phenomenological modeling of durotaxis[J]. *Physical Review E*, 2017, **96**(1): 010402.
- [52] DOERING C R, MAO X, SANDER L M. Random walker models for durotaxis[J]. *Physical Biology*, 2018, **15**(6): 066009.
- [53] NOVIKOVA E A, RAAB M, DISCHER D E, et al. Persistence-driven durotaxis: generic, directed motility in rigidity gradients[J]. *Physical Review Letters*, 2017, **118**(7): 078103.
- [54] PEYTON S R, PUTNAM A J. Extracellular matrix rigidity governs smooth muscle cell motility in a biphasic fashion[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2005, **204**(1): 198-209.
- [55] BERSHADSKY A D, BALABAN N Q, GEIGER B. Adhesion-dependent cell mechanosensitivity[J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2003, **19**(1): 677-695.
- [56] SHEMESH T, GEIGER B, BERSHADSKY A D, et al. Focal adhesions as mechanosensors: a physical mechanism[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, **102**(35): 12383-12388.
- [57] LAZOPOULOS K A, STAMENOVIĆ D. Durotaxis as an elastic stability phenomenon[J]. *Journal of Biomechanics*, 2008, **41**(6): 1289-1294.
- [58] RENS E G, MERKS R M H. Cell shape and durotaxis explained from cell-extracellular matrix forces and focal adhesion dynamics[J]. *IScience*, 2020, **23**(9): 101488.
- [59] ESCRIBANO J, SUNYER R, SÁNCHEZ M T, et al. A hybrid computational model for collective cell durotaxis[J]. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 2018, **17**(4): 1037-1052.
- [60] HASSAN A-R, BIEL T, KIM T. Mechanical model for durotactic cell migration[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2019, **5**(8): 3954-3963.
- [61] CHAN C E, ODDE D J. Traction dynamics of filopodia on compliant substrates[J]. *Science*, 2008, **322**(5908): 1687-1691.
- [62] BANGASSER B L, ROSENFELD S S, ODDE D J. Determinants of maximal force transmission in a motor-clutch model of cell traction in a compliant microenvironment[J]. *Biophysical Journal*, 2013, **105**(3): 581-592.
- [63] BANGASSER B L, SHAMSAN G A, CHAN C E, et al. Shifting the optimal stiffness for cell migration[J]. *Nature Communications*, 2017, **8**(1): 15313.