纳微米沟槽型图案化表面“接触引导”现象及其细胞生理效应

周峰^{①②}, 袁琳^③, 黄鹤^②, 陈红^{①②*}

① 材料复合新技术国家重点实验室, 武汉 430070;

② 武汉理工大学材料科学与工程学院, 武汉 430070;

③ 武汉理工大学生物材料与工程研究中心, 武汉 430070

* 联系人, E-mail: hongchen@whut.edu.cn

2009-01-14 收稿, 2009-04-16 接受

国家自然科学基金(批准号: 90606013)和教育部科学技术研究重点项目(批准号: 107080)资助

摘要 材料表面的拓扑结构对细胞的多种行为及生理功能有着显著影响, 其中沟槽型图案由于能够使细胞产生“接触引导”而备受关注. 本文着重介绍了由该类图案引起的“接触引导”对细胞行为及生理功能影响的研究进展. 所涉及到的内容主要包括影响该现象发生的因素及细胞行为变化和生理效应, 并讨论了“接触引导”发生的可能机制. 最后对该领域的研究趋势和潜在应用进行了展望.

关键词

接触引导
拓扑结构
细胞
沟槽型图案

“接触引导”是指在纳微米级尺寸的沟槽图案上, 细胞的生长取向与沟槽图案方向趋于一致并沿图案生长的现象^[1]. 早在1912年, Harrison^[2]就发现蜘蛛网的拓扑结构能够影响细胞的运动取向, 这是第一次有记载的材料拓扑结构能够影响细胞行为的报道. 随后, Weiss^[3]于1945年证实了Harrison所发现的现象, 并将其命名为“接触引导”. 在20世纪70年代, Rovensky^[3]和Maroudas^[4]等人进一步研究并证实了“接触引导”. 随着微加工技术的发展进步, 研究者通过软刻蚀^[5,6]、电纺丝^[7]、激光刻蚀^[8,9]、电子束刻蚀^[10]、热模压印技术^[11]等多种方法在不同基材上制作出了尺寸各异的沟槽图案, 并就此类图案对成纤维细胞^[12]、成骨细胞^[13]、上皮细胞^[14]、成肌细胞^[11]等多种细胞的行为、生理过程和功能的影响进行了深入研究. 随着该领域研究的深入和组织工程的兴起, 人们发现, “接触引导”不仅在构建具有高度取向的细胞群体中存在潜在应用, 如在神经、肌腱的修复和再生、

骨正常形态的发生等领域, 而且由该现象引起的某些细胞生物学效应也可被用于控制材料和细胞及组织的相互作用, 引起细胞特定的生理响应, 从而达到更好地应用于组织工程的目的^[15]. 因此, “接触引导”在组织工程领域的应用受到越来越广泛的关注^[16-20]. 但目前, 影响“接触引导”发生的因素及其内在的发生机制尚未完全阐明, 对该现象所引起的细胞生物学效应也没有形成全面系统的认识. 本文就影响“接触引导”发生的主要因素、发生机制及其引起的细胞生理效应进行了综述, 并对该领域的研究趋势进行了展望.

1 影响“接触引导”发生的主要因素

目前人们已对影响“接触引导”发生的各种因素有了较深入的了解. 越来越多的研究显示, “接触引导”的发生与否与图案本身的几何尺寸如沟槽的“脊”宽、深度、材料本身理化性质、细胞类型及实验条件

引用格式: 周峰, 袁琳, 黄鹤, 等. 纳微米沟槽型图案化表面“接触引导”现象及其细胞生理效应. 科学通报, 2009, 54: 2265~2270

Zhou F, Yuan L, Huang H, et al. Phenomenon of “contact guidance” on surface with nano-micro-groove-like pattern and cell physiological effects. Chinese Sci Bull, 2009, 54, doi: 10.1360/972009-90

<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/csb2009-54-16-2265>

等多种因素有关。

Charest等人^[11]研究发现,当深为 5.1 μm ,“脊”宽不等的聚碳酸酯沟槽图案上预吸附纤联蛋白后,原代成肌细胞“接触引导”的发生程度随“脊”宽的增大而下降。这与细胞发生“接触引导”的程度在一定范围内与“脊”的宽度呈反比的报道相一致^[21]。而当“脊”宽为 10 μm 时,原代成肌细胞“接触引导”的发生程度最大,说明该尺寸是原代成肌细胞发生“接触引导”的最适尺寸。其他研究报道也表明,对于特定细胞,“接触引导”的发生存在“最适尺寸”。另一方面,Teixeira等人^[14]着重考察不同深度的沟槽对“接触引导”发生的影响。他们发现,在所使用的“脊”宽从 70 nm到 1900 nm的沟槽图案上,人角膜上皮细胞均能发生“接触引导”。但是当图案深度相同,“脊”宽不同时,“接触引导”的发生程度无显著差异;而当“脊”宽相同时,较深图案所引起的“接触引导”更加显著。这与其他人报道的结论相一致,即:当“脊”宽相同时,沟槽的深度对“接触引导”的发生程度起主导作用^[12,14,15,22]。除了研究以上因素对“接触引导”发生程度影响外,人们还进一步研究了引起该现象的沟槽图案所需的临界尺寸。如Loesberg等人^[12]通过软刻蚀技术在聚苯乙烯基材上制作出一系列不同尺寸的沟槽图案后,发现当沟槽深度低于 75 nm或者“脊”宽小于 100 nm时,在最初的 4 h内都未引起鼠真皮成纤维细胞发生“接触引导”,而延长培养时间至 24 h后该细胞开始出现“接触引导”。他们所得出的临界尺寸与其他研究人员报道的存在差异^[23,24]。如Rajnicek等人^[23]研究发现深度最低为 14 nm的石英沟槽图案就已能引起牛角膜上皮细胞和非洲蛙神经突触细胞显著发生“接触引导”。这是目前所报道的引起“接触引导”时图案所需的最浅深度。

此外,研究表明“接触引导”的发生及其程度也与细胞类型有关^[11,22,23]。如Fraser等人^[22]的研究发现,“接触引导”的发生存在一定的细胞类型依赖性,即不同类型细胞发生“接触引导”所需图案的临界尺寸各异;另一方面,对于同一沟槽图案,不同类型细胞发生“接触引导”的程度也不尽相同。对于这种细胞类型依赖性的原因可能与不同类型细胞自身生物学特性有关^[25,26]。由于不同类型细胞在体内所处微环境存在天然的差异,如在体内,角膜上皮细胞所处的基底膜粗糙度为纳米级,而晶状体上皮细胞所处的

基底膜粗糙度为微米级,这些天然差异很可能使得不同类细胞对同一尺寸图案“敏感性”不同,从而导致了研究“接触引导”发生所需“临界尺寸”的结论存在差异^[25,26]。另外,细胞培养条件,如血清存在与否^[12,14],培养的时间长短^[12]等因素都会影响到“接触引导”的发生及其程度。对于培养时间这一因素,目前还未见深入报道。有报道发现适当延长生长在图案上细胞培养时间对“接触引导”的发生更加有利^[12,27,28],但目前就时间因素对“接触引导”影响的内在原因尚不清楚。

综上所述,沟槽图案的尺寸,尤其是深度因素对“接触引导”的发生及其程度有着重要影响。但目前,与“脊”宽因素相比,沟槽图案的深度因素对“接触引导”的发生程度起主导作用这一现象的内在原因还不清楚。此外,以上研究也表明,“接触引导”的发生存在一个“临界尺寸”和“最适尺寸”。虽然目前各研究得出的“临界尺寸”和“最适尺寸”存在差异,但我们要考虑到这些研究所选用的基材性质及图案制作方法等方面的不同对实验结果的影响。据报道,基材自身理化性质如黏弹性、材料表面化学成分等方面的差异都会直接影响细胞在材料表面的生理行为和功能^[29-32]。这启示我们在研究沟槽图案对细胞“接触引导”发生的影响时,除了图案尺寸因素外还应充分考虑材料理化性质等非图案因素的影响。最后,还应特别注意细胞类型,培养条件和观察时间等因素的影响。这样我们才可能在“接触引导”的研究中得出更全面、系统的结论,从而为以后组织工程中种子细胞行为的控制提供更全面的指导。

2 “接触引导”的发生机制

对于“接触引导”发生机制的深入研究是阐明这一现象的重要基础。长期以来人们对“接触引导”的发生机制进行了较深入的研究,并提出了多种可能影响因素和机制,主要涉及到蛋白质在图案化表面的选择性吸附、黏着斑的形成与线形排列、细胞内特定骨架成分的聚集排列,以及伪足的生理作用等因素。

2.1 蛋白的选择性吸附因素

Braber^[33]和Recum^[34]等人从蛋白吸附角度揭示了“接触引导”的发生机制。他们发现胞外基质蛋白在结构各向异性的沟槽图案表面的非均匀性分布是

“接触引导”产生的一个可能原因。他们认为：由于结构各向异性的沟槽图案不同区域的表面能不同，因此造成了胞外基质蛋白沿沟槽方向选择性吸附。当细胞与该表面接触时，细胞将识别在图案表面呈区域性分布的蛋白质并与之结合，从而介导细胞沿着图案方向排列生长。

一般认为，蛋白质在材料表面的吸附是植入材料进入生物体后发生的首要事件，所形成的蛋白吸附层的结构和组成决定着后续生理反应的类型和程度^[35]。蛋白质吸附过程是受蛋白质自身性质、材料表面性质以及所处的环境等多种因素综合影响的复杂过程^[36]。越来越多的研究已经证实，许多拓扑图案能够显著影响吸附在材料表面的蛋白质的分布、构象和活性及其吸附量等^[36-39]。因此，蛋白质的选择性吸附可以引起“接触引导”。

2.2 黏着斑因素

黏着斑是一种主要由整联蛋白组成并介导细胞内肌动蛋白与细胞外基质相结合的一种跨膜复合结构^[40]，“接触引导”的发生与黏着斑的分布及线形排列也有关。Braber^[33,41]、Meyle^[42]和Matsuzaka^[43]等人研究发现，在紧密排列的微米级宽度的沟槽图案上，由于空间位阻的限制，黏着斑几乎全部附着在沟槽“脊”的上表面并沿沟槽线形排列。黏着斑排列的变化将导致细胞骨架中的微丝沿沟槽方向聚集装配，从而引起整个细胞沿沟槽方向排列生长，即“接触引导”。

因此，黏着斑在“脊”上表面的附着和线形排列也是引起“接触引导”的重要原因。

2.3 细胞骨架因素

细胞骨架是指真核细胞中的蛋白纤维网架结构体系，主要由肌动蛋白纤维、微管蛋白、中间纤维蛋白这三种蛋白组成。Gerecht等人^[44]发现，在加入肌动蛋白干扰剂后，人胚胎干细胞难以在亚微米级聚二甲基硅氧烷(PDMS)沟槽图案上发生“接触引导”。由此，他们认为肌动蛋白在“接触引导”的发生中起到重要作用。但也有研究发现，当肌动蛋白和微管蛋白被各自相应干扰剂抑制时，细胞仍然能在微米级宽度沟槽上发生“接触引导”^[45-47]，因此他们认为这两种细胞骨架成分的活性并不是“接触引导”发生的必要条件。

目前，就肌动蛋白和微管蛋白这两种重要的细

胞骨架蛋白的活性是否为“接触引导”发生所必需尚无定论。

2.4 伪足因素

伪足是一种细胞膜表面主要由肌动蛋白纤维构成的动态特化结构，该结构在细胞感受细胞所处的外界环境，引导细胞迁移等方面起着重要作用^[48]。Evans等人^[49]研究了伪足的行为，认为“接触引导”的产生与丝状伪足及扁平伪足在沿水平垂直于沟槽方向受到邻近“脊”的空间阻碍有关。Teixeira^[14]和Dalby^[50]等人也认为，丝状伪足和扁平伪足能够“感知”水平垂直于沟槽方向的位阻刺激，使得伪足只能沿平行于沟槽方向产生牵引力，并导致细胞沿沟槽方向排列生长。

综合以上对各因素的研究，我们认为，“接触引导”发生的内在因素和机制是由多种因素单独或共同作用造成的。Andersson^[28]和Hamilton^[51]等人的研究也证实了“接触引导”的发生可能与以上多种因素有关。

3 “接触引导”引起的细胞生理效应

随着对“接触引导”研究的逐渐深入，人们在研究“接触引导”对细胞宏观行为影响的同时，就沟槽图案对细胞生理效应的影响也进行了研究。发现沟槽图案不仅影响细胞的宏观行为如引起“接触引导”，而且对某些细胞的生理功能及过程有着显著影响。

Yim等人^[52]在PDMS沟槽图案上，发现“接触引导”对间叶干细胞的分化有显著的促进作用，主要体现在与微管蛋白形成有关的基因及Tuj1, MAP2, GFAP基因的表达上，并且他们还发现这种促进作用与“接触引导”的发生程度呈正相关。Gomez等人^[53]也报道“接触引导”能够有效引起海马趾胚胎神经细胞的极化和轴突形成过程。另一方面，Chaubey等人^[54]比较了两种不同基材制作的沟槽图案对鼠多能骨髓干细胞代谢的影响，发现生长在聚乳酸基材图案表面的细胞其脂肪合成量始终维持在一个中等水平；而生长在聚苯乙烯基材图案上的细胞在实验初期其脂肪合成量高于生长在聚乳酸基材上的细胞，但在后期却低于聚乳酸基材上的细胞。除了以上材料的化学性质因素外，近些年来材料的物理性质如硬度、弹性模量对细胞的行为及功能的影响也受到日益广泛的关注。如Tzvetkova-Chevolleau等人^[55]通过软刻蚀技术在PDMS基材上制作了“软”(500 kPa)，“较

硬”(750 kPa), “硬”(2000 kPa)3种不同弹性模量的微米级沟槽图案, 研究了3T3细胞和SaI/N癌细胞在这3种不同弹性模量图案上的迁移性和极化动力学等. 他们发现 3T3 细胞在图案上达到极化平衡态所需的时间随着基材弹性模量的递减而缩短; SaI/N癌细胞在“硬”(2000 kPa)的图案上的迁移速率显著高于在“软”(500 kPa)图案上的迁移速率.

综上所述, 沟槽图案可以显著影响细胞的生理行为和功能, 并且其影响大小与“接触引导”的发生程度有关. 此外, 除了图案尺寸因素外, 材料表面的化学及物理性质也会对细胞生理行为和功能产生显著影响. 这启示我们, 在充分考虑细胞类型和所选材料自身性质的基础上, 可以通过优化支架材料的拓扑结构和化学组成来达到影响并控制组织工程中种子细胞生理行为和功能的目的.

4 研究的发展趋势

过去, 该领域的研究侧重于性质不同的微米尺

度的沟槽图案对各类型细胞“接触引导”的发生以及机制的影响. 目前, 随着研究的进一步深入和图案制作方法的改进, 该领域的研究呈现出以下几个方面特点: (1) 图案与非图案因素的结合. 这主要包括两个方面: 图案与生物活性分子相结合^[54], 图案与外部作用力相结合^[23], 以通过图案与其他因素的复合作用来更有效地控制细胞生理响应. (2) 智能材料的运用. 如在沟槽图案上修饰一层温敏材料来实现定向排列的细胞片层及可控的无损伤分离, 从而应用于细胞片组织工程^[56]. (3) 体内环境中沟槽图案对细胞的影响. 体内是一个极其复杂的生理环境, 植入体内的材料长期受到动态应力、化学、生物等因素的影响. 但目前该领域的研究大多都集中在体外且处于细胞层次, 而在体内环境中深入研究“接触引导”及更高层次的生物响应, 对组织工程材料的设计及应用更具有指导意义. 因此, 在体内环境研究沟槽图案对细胞的影响应引起人们足够的重视.

参考文献

- Weiss P. Experiments on cell and axon orientation *in vitro*: The role of colloidal exudates in tissue organization. *J Exp Zool*, 1945, 100: 353—386^[DOI]
- Harrison R G. The cultivation of tissues in extraneous media as a method of morphogenetic study. *Anat Rec*, 1912, 6: 181—193^[DOI]
- Rovensky Y A, Slavnaia I L, Vasiliev J M. Behavior of fibroblast-like cells on grooved surfaces. *Exp Cell Res*, 1971, 65: 193—201^[DOI]
- Maroudas N G. Anchorage dependence: Correlation between amount of growth and diameter of bead, for single cells grown on individual glass beads. *Exp Cell Res*, 1972, 74: 337—342^[DOI]
- Arnold M, Cavalcanti-Adam E A, Glass R, et al. Activation of integrin function by nanopatterned adhesive interfaces. *Chemphyschem*, 2004, 5: 383—388^[DOI]
- Jiang X Y, Takayama S, Qian X P, et al. Controlling mammalian cell spreading and cytoskeletal arrangement with conveniently fabricated continuous wavy features on poly(dimethylsiloxane). *Langmuir*, 2002, 18: 3273—3280^[DOI]
- Schindler M, Ahmed I, Kamal J, et al. A synthetic nanofibrillar matrix promotes *in vivo*-like organization and morphogenesis for cells in culture. *Biomaterials*, 2005, 26: 5624—5631^[DOI]
- Zhu B S, Lu Q H, Yin J, et al. Effects of laser-modified polystyrene substrate on CHO cell growth and alignment. *J Biomed Mater Res B*, 2004, 70B: 43—48^[DOI]
- Wang X F, Ohlin C A, Lu Q H, et al. Influence of physicochemical properties of laser-modified polystyrene on bovine serum albumin adsorption and rat C6 glioma cell behavior. *J Biomed Mater Res A*, 2006, 78A: 746—754^[DOI]
- Teixeira A I, Nealey P F, Murphy C J. Responses of human keratocytes to micro- and nanostructured substrates. *J Biomed Mater Res A*, 2004, 71A: 369—376^[DOI]
- Charest J L, Garcia A J, King W P. Myoblast alignment and differentiation on cell culture substrates with microscale topography and model chemistries. *Biomaterials*, 2007, 28: 2202—2210^[DOI]
- Loesberg W A, te Riet J, van Delft F, et al. The threshold at which substrate nanogroove dimensions may influence fibroblast alignment and adhesion. *Biomaterials*, 2007, 28: 3944—3951^[DOI]

- 13 Biggs M J P, Richards R G, McFarlane S, et al. Adhesion formation of primary human osteoblasts and the functional response of mesenchymal stem cells to 330 nm deep microgrooves. *J R Soc Interface*, 2008, 5: 1231—1242 [\[DOI\]](#)
- 14 Teixeira A I, Abrams G A, Bertics P J, et al. Epithelial contact guidance on well-defined micro- and nanostructured substrates. *J Cell Sci*, 2003, 116: 1881—1892 [\[DOI\]](#)
- 15 Choi C H, Hagvall S H, Wu B M, et al. Cell interaction with three-dimensional sharp-tip nanotopography. *Biomaterials*, 2007, 28: 1672—1679 [\[DOI\]](#)
- 16 Pietak A, McGregor A, Gauthier S, et al. Are micropatterned substrates for directed cell organization an effective method to create ordered 3D tissue constructs? *J Tissue Eng Regen Med*, 2008, 2: 450—453 [\[DOI\]](#)
- 17 Li J M, McNally H, Shi R. Enhanced neurite alignment on micro-patterned poly-L-lactic acid films. *J Biomed Mater Res A*, 2008, 87A: 392—404
- 18 Seidlits S K, Lee J Y, Schmidt C E. Nanostructured scaffolds for neural applications. *Nanomed*, 2008, 3: 183—199 [\[DOI\]](#)
- 19 Almaraz A J, Yang G G, Woo S L Y, et al. Positive changes in bone marrow-derived cells in response to culture on an aligned bio-scaffold. *Tissue Eng A*, 2008, 14: 1489—1495 [\[DOI\]](#)
- 20 Lee E J, Holmes J W, Costa K D. Remodeling of engineered tissue anisotropy in response to altered loading conditions. *Ann Biomed Eng*, 2008, 36: 1322—1334 [\[DOI\]](#)
- 21 Clark P, Connolly P, Curtis A S G, et al. Topographical control of cell behavior: II. Multiple grooved substrate. *Development*, 1990, 108: 635—644
- 22 Fraser S A, Ting Y H, Mallon K S, et al. Sub-micron and nanoscale feature depth modulates alignment of stromal fibroblasts and corneal epithelial cells in serum-rich and serum-free media. *J Biomed Mater Res A*, 2008, 86A: 725—735 [\[DOI\]](#)
- 23 Rajnicek A M, Foubister L E, McCaig C D. Alignment of corneal and lens epithelial cells by co-operative effects of substratum topography and DC electric fields. *Biomaterials*, 2008, 29: 2082—2095 [\[DOI\]](#)
- 24 Bettinger C J, Orrick B, Misra A, et al. Micro fabrication of poly(glycerol-sebacate) for contact guidance applications. *Biomaterials*, 2006, 27: 2558—2565 [\[DOI\]](#)
- 25 Kuszak J R, Zoltoski R K, Sivertson C. Fibre cell organization in crystalline lenses. *Exp Eye Res*, 2004, 78: 673—687 [\[DOI\]](#)
- 26 Holmes D F, Gilpin C J, Baldock C, et al. Corneal collagen fibril structure in three dimensions: Structural insights into fibril assembly, mechanical properties, and tissue organization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 7307—7312
- 27 Cao Y, Chen J, Adeoye M O, et al. Investigation of the spreading and adhesion of human osteosarcoma cells on smooth and micro-grooved polydimethylsiloxane surfaces. *Mater Sci Eng C*, 2009, 29: 119—125 [\[DOI\]](#)
- 28 Andersson A S, Olsson P, Lidberg U, et al. The effects of continuous and discontinuous groove edges on cell shape and alignment. *Exp Cell Res*, 2003, 288: 177—188 [\[DOI\]](#)
- 29 Keselowsky B G, Collard D M, Garcia A J. Integrin binding specificity regulates biomaterial surface chemistry effects on cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 5953—5957 [\[DOI\]](#)
- 30 Keselowsky B G, Collard D M, Garcia A J. Surface chemistry modulates focal adhesion composition and signaling through changes in integrin binding. *Biomaterials*, 2004, 25: 5947—5954 [\[DOI\]](#)
- 31 Yu L M Y, Leipzig N D, Shoicher M S. Promoting neuron adhesion and growth. *Mater Today*, 2008, 11: 36—43
- 32 Feinberg A W, Wilkerson W R, Seeger C A, et al. Systematic variation of microtopography, surface chemistry and elastic modulus and the state dependent effect on endothelial cell alignment. *J Biomed Mater Res A*, 2008, 86A: 522—534 [\[DOI\]](#)
- 33 den Braber E T, Ginsel L A, von Recum A F, et al. Orientation of ECM protein deposition, fibroblast cytoskeleton, and attachment complex components on silicone microgrooved surfaces. *J Biomed Mater Res*, 1998, 40: 291—300 [\[DOI\]](#)
- 34 Recum A F, van Kooten T G. The influence of micro-topography on cellular response and the implications for silicone implants. *J Biomater Sci Polym Ed*, 1995, 7: 181—198
- 35 Chen H, Yuan L, Wu Z K, et al. Biocompatible polymer materials: Role of protein-surface interactions. *Prog Polym Sci*, 2008, 33: 1059—1087 [\[DOI\]](#)
- 36 宋巍, 陈红. 蛋白质在纳米拓扑结构材料表面的吸附. *科学通报*, 52: 2701—2704
- 37 Han M, Sethuraman A, Kane R S, et al. Nanometer-scale roughness having little effect on the amount or structure of adsorbed protein. *Langmuir*, 2003, 19: 9868—9872 [\[DOI\]](#)
- 38 Rechendorff K, Hovgaard M B, Foss M, et al. Enhancement of protein adsorption induced by surface roughness. *Langmuir*, 2006, 22: 10885—10888 [\[DOI\]](#)
- 39 Roach P, Farrar D, Perry C C. Surface tailoring for controlled protein adsorption: Effect of topography at the nanometer scale and chemistry. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 3939—3945 [\[DOI\]](#)

- 40 Burridge K, Fath K, Kelly T, et al. Focal adhesions-transmembrane junctions between the extracellular-matrix and the cytoskeleton. *Annu Rev Cell Biol*, 1988, 4: 487—525
- 41 den Braber E T, de Ruijter J E, Ginsel L A, et al. Quantitative analysis of fibroblast morphology on microgrooved surfaces with various groove and ridge dimensions. *Biomaterials*, 1996, 17: 2037—2044[DOI]
- 42 Meyle J, Gultig K, Brich M, et al. Contact guidance of fibroblasts on biomaterial surfaces. *J Mater Sci Mater Med*, 1994, 5: 463—466[DOI]
- 43 Matsuzaka K, Walboomers F, de Ruijter A, et al. Effect of microgrooved poly-l-lactic (PLA) surfaces on proliferation, cytoskeletal organization, and mineralized matrix formation of rat bone marrow cells. *Clin Oral Implant Res*, 2000, 11: 325—333[DOI]
- 44 Gerecht S, Bettinger C J, Zhang Z, et al. The effect of actin disrupting agents on contact guidance of human embryonic stem cells. *Biomaterials*, 2007, 28: 4068—4077[DOI]
- 45 Oakley C, Brunette D M. Topographic compensation: Guidance and directed locomotion of fibroblasts on grooved micromachined substrata in the absence of microtubules. *Cell Motil Cytoskel*, 1995, 31: 45—58[DOI]
- 46 Oakley C, Jaeger N A F, Brunette D M. Sensitivity of fibroblasts and their cytoskeletons to substratum topographies: Topographic guidance and topographic compensation by micromachined grooves of different dimensions. *Exp Cell Res*, 1997, 234: 413—424[DOI]
- 47 Walboomers X F, Ginsel L A, Jansen J A. Early spreading events of fibroblasts on microgrooved substrates. *J Biomed Mater Res*, 2000, 51: 529—534[DOI]
- 48 Wood W, Martin P. Structures in focus-filopodia. *Int J Biochem Cell Biol*, 2002, 34: 726—730[DOI]
- 49 Evans M D M, Taylor S, Dalton B A, et al. Polymer design for corneal epithelial tissue adhesion: Pore density. *J Biomed Mater Res A*, 2003, 64A: 357—364[DOI]
- 50 Dalby M J, Riehle M O, Johnstone H, et al. *In vitro* reaction of endothelial cells to polymer demixed nanotopography. *Biomaterials*, 2002, 23: 2945—2954[DOI]
- 51 Hamilton D W, Brunette D M. “Gap guidance” of fibroblasts and epithelial cells by discontinuous edged surfaces. *Exp Cell Res*, 2005, 309: 429—437[DOI]
- 52 Yim E K F, Pang S W, Leong K W. Synthetic nanostructures inducing differentiation of human mesenchymal stem cells into neuronal lineage. *Exp Cell Res*, 2007, 313: 1820—1829[DOI]
- 53 Gomez N, Lu Y, Chen S C, et al. Immobilized nerve growth factor and microtopography have distinct effects on polarization versus axon elongation in hippocampal cells in culture. *Biomaterials*, 2007, 28: 271—284[DOI]
- 54 Chaubey A, Ross K J, Leadbetter R M, et al. Surface patterning: Tool to modulate stem cell differentiation in an adipose system. *J Biomed Mater Res B*, 2008, 84B: 70—78[DOI]
- 55 Tzvetkova-Chevolleau T, Stephanou 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: 1541—1551[DOI]
- 56 Isenberg B C, Tsuda Y, Williams C, et al. A thermoresponsive, microtextured substrate for cell sheet engineering with defined structural organization. *Biomaterials*, 2008, 29: 2565—2572[DOI]