

- [7] Pearce J, Morley S. An experimental investigation of the construct validity of the McGill Pain Questionnaire[J]. Pain, 1989, 39(1): 115.
- [8] Roelofs J, Peters ML, Zeegersb MPA, et al. The modified Stroop paradigm as a measure of selective attention towards pain-related stimuli among chronic pain patients: a meta-analysis[J]. Eur J Pain, 2002, 6(4): 273.
- [9] Payne KA, Binik YM, Amsel R, et al. When sex hurts, anxiety and fear orient attention towards pain[J]. Eur J Pain, 2005, 9(4): 427.
- [10] Posner MI, Synder CR, Davidson BJ. Attention and the detection of signals[J]. J Exp Psychol, 1980, 109(2): 160.
- [11] Asmundson GJG, Carleton RN, Ekong J. Dot-probe evaluation of selective attentional processing of pain cues in patients with chronic headaches[J]. Pain, 2005, 114(1/2): 250.
- [12] Keogh E, Ellery D, Hunt C, et al. Selective attentional bias for pain-related stimuli amongst pain fearful individuals[J]. Pain, 2001, 91(1/2): 91.
- [13] Roelofs J, Peters ML, Fassaert T, et al. The role of fear of movement and injury in selective attentional processing in patients with chronic low back pain: a dot-probe evaluation[J]. J Pain, 2005, 6(5): 294.
- [14] Roelofs J, Peters ML, Vlaeyen JWS. Selective attention for pain-related information in healthy individuals: the role of pain and fear[J]. Eur J Pain, 2002, 6(5): 331.
- [15] Roelofs J, Peters ML, Zijden M, et al. Selective attention and avoidance of pain-related stimuli: a dot-probe evaluation in a pain-free population[J]. J Pain, 2003, 4(6): 322.
- [16] Sternberg S. Memory scanning: mental processes revealed by reaction-time experiment[J]. Am Sci, 1969, 57(2): 421.
- [17] Veldhuijzen DS, Kenemans JL, Bruin MC, et al. Pain and attention: attentional disruption or distraction? [J]. J Pain, 2006, 7(1): 11.
- [18] 高文斌, 罗跃嘉. 视觉空间注意的事件相关电位研究[J]. 心理科学进展, 2002, 10(4): 351.
- [19] Bush G, Shin LM, Holmes J, et al. The multi-source interference task: validation study with fMRI in individual subjects[J]. Mol Psychiatry, 2003, 8(1): 60.
- [20] Seminowicz DA, Davis KD. Pain enhances functional connectivity of a brain network evoked by performance of a cognitive task[J]. J Neurophysiol, 2007, 97(5): 3651.
- [21] Seminowicz DA, Davis KD. Interactions of pain intensity and cognitive load: the brain stays on task[J]. Cerebral Cortex, 2007, 17(6): 1412.
- [22] Nouwen A, Cloutier C, Kappas A, et al. Effects of focusing and distraction on cold pressor-induced pain in chronic back pain patients and control subjects[J]. J Pain, 2006, 7(1): 62.
- [23] Boyle Y, El-Dereby W, Montes MM, et al. Selective modulation of nociceptive processing due to noise distraction [J]. Pain, 2008, 138(3): 630.
- [24] Tracey I, Ploghaus A, Gati JS, et al. Imaging attentional modulation of pain in the periaqueductal gray in humans [J]. J Neurosci, 2002, 22(7): 2748.
- [25] Hoffman HG, Garcia PA, Kapa V, et al. Immersive virtual reality for reducing experimental ischemic pain[J]. Int J Hum Comput Interact, 2003, 15(3): 469.
- [26] 李丽萍, 江晓, 葛衡江. 术后疼痛对老年患者术后早期认知功能的影响[J]. 重庆医学, 2009, 38(14): 1802.

(收稿日期: 2010-03-08 修回日期: 2010-07-22)

· 综 述 ·

基因芯片技术在基因突变诊断中的应用及其前景*

朱晓斌 综述, 袁耿彪[△] 审校

(重庆医科大学附属第二医院核医学科 400010)

关键词: 基因突变; 基因芯片技术; 甲状腺癌

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2010.22.059

中图分类号: R454.9; R736.1

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)22-3128-04

基因芯片诊断技术是伴随着人类基因组计划的实施而发展起来的生命科学领域里的前沿生物技术。它最显著的特点是高通量、高集成、微型化、平行化、多样化和自动化。经过短短十几年的发展, 基因芯片技术现已在基因表达分析、基因突变及多态性分析、疾病基因诊断、新药设计、药物及毒物基因组学等多个领域显示出重大的理论意义和实际应用价值, 具有广阔的前景。人类基因组大约由 3×10^9 个核苷酸对组成, 其中约 5% 的 DNA 为基因编码序列, 共编码 5~10 个基因。在机

体内外环境因素的作用下, 或者有些基因损伤等而发生变异, 即出现各式各样的基因突变。基因突变是指基因组 DNA 序列中 1 个或多个位点的碱基发生突变、缺失、插入等现象, 单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphisms, SNP) 是指在进化过程中, 由基因组核苷酸的变异引起的 DNA 序列差异, 包括碱基的缺失、插入以及单个碱基的转换或颠换, 是导致遗传性疾病和肿瘤的重要原因之一^[1]。本文对基因芯片技术在医学中, 尤其在甲状腺癌诊断中的应用进行综述。

20 世纪末人类基因组计划 (human genome project, HGP) 的完成,极大地带动了人类疾病相关基因以及病原微生物基因的定位、克隆、结构与功能研究。基因芯片就是在这个背景下发展起来的一项分子生物学新技术,因具有与芯片相似的微型化和大规模分析、处理生物信息的特点而得名,它能在一块或若干块芯片上完成生物样品的分离、制备、生化反应的进行,如:核酸产物的分离 (separation of nucleic acid products)、杂交 (hybridization) 以及聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 等诸多生物学过程,显示出快速、高效率、高通量处理生物学信息的能力。基因芯片技术又称 DNA 微阵列技术。该技术为了解人类疾病提供了一个革命性的技术平台,为新假设的提出奠定了基础,被认为是继基因克隆技术、基因测序技术和 PCR 技术后的又一次革命性的技术突破^[2]。

1 基因芯片技术

基因芯片技术是生物芯片技术中最基础的,也是发展最成熟以及最先进入应用和商品化的领域。基因芯片又称为 DNA 芯片、DNA 微阵列,基于核酸互补杂交原理所研制的^[3]。基因芯片是采用光导原位合成或微量点样方法,将核酸片段以预先设计好的排列方式固化在固相支持物(硅片、玻片、聚丙烯酰胺凝胶、尼龙膜等载体)的表面,组成密集二维分子排列,利用核酸杂交原理,通过激光共焦扫描及分析软件,可对上千种基因的表达水平、突变和多态性进行快速、并行、准确、高效地检测分析^[4]。

1.1 基因芯片技术的基本类型

1.1.1 光引导原位合成技术 采用照相平板印刷技术,结合光引导原位寡聚核苷酸合成技术,制作和生产寡聚核苷酸微阵列芯片。二者的结合为合成高密度核酸探针及短肽阵列提供了一条快捷的途径。这种技术生产的基因芯片可以达到 $10^6/\text{cm}^2$ 的微探针排列密度,能够在一片 1 cm 多见方的片基上排列几百万个寡聚核苷酸探针,不仅可以用于寡聚核苷酸的合成,也可用于合成寡肽分子。

1.1.2 微电子芯片^[5] 电子芯片是由美国 Nanogen 公司开发的,采用多位点电控阵列并含独立可寻址检测区域的微电子基因芯片,其基质全部以硅、锗为基础的半导体材料,在其上构建 25~400 个 μPt 电极位点,各位点可由计算机独立或组合控制。无论在芯片制造或成品芯片检测,均可通过相似微电极的电场变化来使核酸结合,引入“电子严谨度”参数使芯片检测通过靶、探针序列特征和使用者要求来控制杂交过程中的严格性。

1.1.3 微量点样技术 目前大部分生产基因芯片的单位都是使用这一方法,采用了更加微量的点样技术,可以点更加微量的探针。将许多特定的寡核苷酸片段或基因片段有规律地排列固定于支持物(如膜、硅片、陶瓷片及玻片)上,然后通过类似于 Northern、Southern 印迹杂交技术的方法与待测的标记样品按碱基配对原理进行杂交,再通过检测系统对其进行扫描,并用相应软件对信号进行比较和检测,得到所需的大量信息,进行基因的高通量、大规模、平行化、集约化的信息处理和功能研究。其主要优点是简便宜行,技术要求较低,并且探针不受探针分子大小种类的限制,能够灵活机动地根据使用者的要求制作出符合目的的芯片。

1.1.4 其他技术 美国国立卫生研究院 (NIH)、测径器公司和 Orchidbio 公司研制了一种毛细管微流泵芯片^[6],在边长 2 英寸的芯片上集成了 144 个微室,分别由流入孔、反应室、循环管和废液流出孔组成,这种芯片不但可以用于基因诊断和分

析,还可用于化学合成。

1.2 基因芯片技术的基本步骤

1.2.1 光蚀刻合成法 是最初常用的一种方法,其主要过程是在固相支持物上耦联带有可感光保护基团 X 的羟基,汞光有选择地照射到固相支持物。去掉可感光保护基团 X,使羟基成为有功能的自由羟基,与加入的带 X 的核苷酸耦联,第一个反应物嫁接到目标位置上。随着反应的重复,链不断地延伸,当所需的寡核苷酸链合成完后,对反应基板进行无遮板的汞光普照,去除所有的 X,即可得到所需的寡核苷酸阵列。这样,光照模式和反应物的加入顺序决定了合成产物的序列以及在基板上的位置。该法可以合成 30 个碱基左右,其优点在于精确性高,缺点是制造可感光保护剂价格较为昂贵。该法由美国的 Affymetrix 公司首先开发采用。目前该公司已开发功能能同时检测 6 500 个已知人类基因的 DNA 芯片。

1.2.2 压电印刷法 其原理类似于喷墨打印机,打印头头的墨盒有 4 个,分别装有 4 种不同的碱基,打印头在方阵上移动,并将带有某种碱基的试剂滴到基板表面,然后固定。经过洗脱和去保护后,就可以连接新的核苷酸,使寡核苷酸链延伸。该法使用的技术原理与传统的 DNA 固相合成相一致。压电印刷法可以合成 40~50 个碱基,此法效率高但工艺不太成熟,目前该法主要由美国的 Incyte Pharmaceuticals 公司采用。

1.2.3 点样法 即预先合成寡核苷酸,肽核苷酸或分离得到互补 DNA (cDNA),再通过点样机直接将其点到芯片上。寡核苷酸或肽核苷酸的合成主要是通过多孔玻璃合成法。肽核苷酸虽然在制备上比较复杂,但是它与 DNA 探针相比,由于戊糖核酸 (PNA) 与 DNA 结合的复合物更加稳定和特异,因而更加有利于单碱基错配基因的检测。来自某一细胞的 cDNA 必须进行预处理、纯化、扩增以及分类。然后再利用机械手把它们准确地固定在基板的相应位置上。为了保证 cDNA 芯片检测的准确性,在制备 cDNA 芯片以前必须提高低表达基因 cDNA 的丰度,降低高表达基因 cDNA 的丰度。点样法的优点在于成本低、速度快,但缺点是构成方阵的寡核苷酸或 cDNA 片段需事先纯化。目前采用该法的公司最多,有英国 Brax Genomics Limited 公司和美国 Hyseq、Molecular Dynamics、Nanogen 等多家公司^[7]。

1.3 样品的制备 生物样品成分往往比较复杂,所以在与芯片接触前必须对样品先行处理。为了提高检测结果的准确性,来自血液或组织中的 DNA/mRNA 样本须先行扩增,然后再被荧光素或同位素标记成为探针。

1.3.1 杂交 影响杂交的因素很多,但主要是时间、温度及缓冲液的盐浓度。如果是表达检测,需要长历时、低温和高盐条件的较严谨性杂交。而如果是突变检测,需要短历时,高温和低盐条件的高严谨性杂交。总之,杂交条件的选择,要根据芯片上核酸片段的长短及其本身的用途来决定。

1.3.2 杂交图谱的检测和读出 目前最为常用的是激光共聚焦荧光检测系统,其原理主要是与芯片发生杂交的探针上的荧光被激发后经过棱镜刚好能通过共聚焦小孔,而能被探测器检测,而芯片之外的其他荧光信号则不能被探测器检测到,检测到的荧光信号通过计算机处理后就可直接读出杂交图谱。此法灵敏度和精确度较高,但是扫描所需时间较长。另一种检测系统采用电荷耦合装置 (CCD) 摄像原理,它虽然灵敏度和精确度较低,但所需的扫描时间较短,因而更适用于临床诊断。此外,近年来还发展了多种检测方法,如质谱法,化学发光法,光导纤维法等多种方法,其中最具有前途的是质谱法。

2 基因芯片在基因突变中的应用

基因芯片是在基因组水平上发现并研究基因功能的有力工具。1996 年 Lockhart 用于分析 mRNA 的表达水平时,只能检测 1 000 个基因。而现在寡核苷酸芯片可以携带目前已知的所有基因(达到 38 500 个)的探针口,在 1 次试验中可以检测 20 000~100 000 个基因。现已广泛用于疾病机制的研究、疾病的分类和诊断、疾病的预测和治疗。

2.1 基因芯片在甲状腺癌(TC)相关基因突变中的应用 TC 是内分泌系统最常见的一类恶性肿瘤,约占人类全部恶性肿瘤的 1%。常见的 4 种病理类型中,约 80% 的乳头状癌中有 V 型鼠科肉瘤病毒 B₁ 的同源致癌基因(BRAF)突变(45%)、甲状腺乳头状癌的转染(RET/PTC)重排(20%~80%)和宿主细胞基因组(RAS)突变(10%~20%),但很少在同一个病灶中共存。约 15% 的滤泡状癌中,常见 RAS 突变(40%~50%)和活化一过氧化物酶体增殖激活受体 γ (PAX8-PPAR γ)点突变(35%)及 PI3K/AKT 突变(6%~13%);胡尔特尔细胞瘤中存在 RAS 突变(5%~25%)。低分化和退化性 TC 中,p53 点突变分别为 60%~80%、15%~30%;RAS 点突变分别为 18%~27%、50%~60%;BRAF 突变分别为 15%、20%。髓样癌进展期常见到 RET 点突变。大多数基因改变会导致促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号系统的激活^[8]。

利用基因芯片技术可对 TC 作快速、简便、高效、准确地分析而得出病变信息:DNA 突变发生在何部位?属于什么样的序列突变?基因表达有何异常?得出正确的诊断后,即可根据病变的靶序列或靶蛋白设计相应的药物,以改变靶序列的表达情况从而达到治疗疾病的目的,为 TC 的早期诊断和分型开辟了一个新的领域口。

2.2 基因芯片的高通量测序技术 高通量测序技术是对传统测序一次革命性的改变,1 次对几十万到几百万条 DNA 分子进行序列测定,因此在有些文献中称其为下一代测序技术(next generation sequencing),足见其划时代的改变,同时高通量测序使得对一个物种的转录组和基因组进行细致全貌的分析成为可能,所以又被称为深度测序(deep sequencing)^[9]。高通量测序平台的代表是罗氏公司(Roche)的 454 测序仪(Roch GS FLX sequencer),Illumina 公司的 Solexa 基因组分析仪(Illumina Genome Analyzer)和 ABI 的 SOLiD 测序仪(ABI SOLiD sequencer)。2008 年 4 月 Helico BioScience 公司的 Timothy 等人,在 Science 上报道了他们开发的真正的单分子测序技术,并利用该技术对一个 M13 病毒基因组进行重测序^[10]。这项技术之所以被称为真正的单分子测序,是因为它完全跨过了上述 3 种高通量测序依赖的基于 PCR 扩增的信号放大过程,真正达到了读取单个荧光分子的能力,向 1 000 美元测定一个人类基因组的目标迈出了一大步。这些平台共同的特点是极高的测序通量,相对于传统测序的 96 道毛细管测序,高通量测序 1 次实验可以读取 40 万到 400 万条序列,读取长度根据平台不同从 25~450 个碱基,不同的测序平台在 1 次实验中,可以读取 1~14G 的碱基数^[11],这样庞大的测序能力是传统测序仪所不能比拟的。

2.3 基因芯片的其他应用 由于基因芯片的快速发展,现已用于社会各界的各个领域,如在药物筛选和新药开发方面,用芯片作大规模的筛选研究可以省略大量的动物实验甚至临床,缩短药物筛选所用时间,提高效率,降低风险^[12];在环境保护上,基因芯片也有广泛的用途,一方面可以快速检测污染微生物或有机化合物对环境、人体、动植物的污染和危害,同时也能

够通过大规模的筛选寻找保护基因,制备防治危害的基因工程药品、或能够治理污染源的基因产品;基因芯片还可用于司法,现阶段可以通过 DNA 指纹对比来鉴定罪犯,未来可以建立全国甚至全世界的 DNA 指纹库,到那时以直接在犯罪现场对可能是疑犯留下来的头发、唾液、血液、精液等进行分析,并立刻与 DNA 罪犯指纹库系统存储的 DNA 指纹进行比较,以尽快、准确的破案;基因芯片技术还可以用来筛选农作物的基因突变,并寻找高产量、抗病虫、抗干旱、抗冷冻的相关基因,也可以用于基因扫描及基因文库作图、商品检验检疫等领域。

3 基因芯片有待解决的问题及其新进展

基因芯片技术仍然处于发展阶段,要发展成为实验室普遍采用的技术仍有一些关键问题亟待解决:(1)相比 Northern blot 或 RT-PCR,不能检测微量 mRNA;(2)荧光标记不均一,灵敏度低;(3)制作程序复杂,样品处理繁琐,成本高;(4)杂交条件高度个体化,难以形成统一的标准。随着芯片技术的不断成熟,很多问题正在逐步解决。如 DNA 合成方法的改进,现已允许更长的寡核苷酸探针用于点阵芯片。探针的构造变得简化,没有了 PCR 的扩增,仅要求清洗。这同时提高了杂交的一致性、批处理的一致性和点阵的一致性^[13]。为了使每一个样品杂交的费用降到最低,现在多采用单染色。因此,越来越多的 cDNA 芯片的研究转向寡核苷酸芯片研究。另一个改进方向是采用 8 cm×12 cm 的标准微型芯片^[14]。通过机器人分配液体,96 个样品从准备、扩增、标记、清洗及杂交都可以同时自动处理,即形成缩微芯片实验室(lab-on-a-chip)。再进一步结合卫星传输和网络生物信息学的资源,真正实现高通量、一体化、移动性的“未来型掌上实验室”。

此外,基因芯片正结合以下新技术向新的方向发展:(1)激光捕获显微切割技术(laser-capture microdissection,LCM)^[15],由美国癌症研究所发明,可以得到某一特定细胞的纯群。该技术是用组织病理学方法对冷冻组织染色,用激光在显微镜下切割特定区域的组织,从微型胶片上得到纯细胞群。最近已有将基因芯片技术和 LCM 技术结合起来研究头颈部鳞状细胞癌基因表达谱的报道。(2)染色质免疫沉淀反应(chromatin immunoprecipitation,ChIPs)^[16],ChIPs 可以鉴别已知蛋白质和 DNA 序列的交互作用,提供靶基因特定转录因子的信息。该技术与基因芯片相结合,可以把已知基因组的 DNA 序列杂交到芯片上,这等同于把基因的启动子捆绑在蛋白质上面。这种相结合的方法已用于检测酵母的转录控制。(3)单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms,SNPs)分析^[17],将来基因芯片技术的一个主要挑战就是识别 SNPs。现在已经通过特定的 SNPs 芯片,大规模地研究 SNPs 分析。目前,基因芯片已经可以识别 1 000 个已知的 SNPs,检测更大量的 SNPs(达到 100 000 SNPs)基因芯片正在研究中。(4)蛋白质和抗体芯片,是在 ELISA 基础上采用 xMAP(flexible multianalyte profiling)技术发展起来的新芯片,又称液相芯片(liquichip)。与传统芯片相比,整个反应都在液相中进行,不需要洗涤,灵敏度高,被认为是质谱分析法后又一实用的分析复杂蛋白组分的技术,目前已用于细胞因子、激酶等的检测。

参考文献:

- [1] Ferrari M, Cremonesi L, Bonini P, et al. Single-Nucleotide polymorphism and mutation identification by the Nanogen microelectronic chip technology[J]. Methods Mol Med, 2005, 144(3/4):93.

- [2] Chang JC, Hilsenbeck SG, Fuqua SA. Genomic approaches in the management and treatment of breast cancer[J]. Br J Cancer, 2005, 92(4):618.
- [3] Chen MH, Ibrahim JG, Chi YY. A new class of mixture models for differential gene expression in DNA microarray data[J]. J Statist Planning Infer, 2008, 138(2):387.
- [4] Pal NR, Aguan K, Sharma A, et al. Discovering biomarkers from gene expression data for predicting cancer subgroups using neural networks and relational fuzzy clustering[J]. BMC Bioinformatics, 2007, 8(5):1.
- [5] Dudda-Subramanya R, Lucchese G, Kanduc D, et al. Clinical applications of DNA microarray analysis[J]. J Exp Ther Oncol, 2003, 3(6):297.
- [6] Xu JQ, Wan N, Cheng J. Bio-chip technology and microfilm laboratory[J]. Med Philos, 2000, 21(2):8.
- [7] Norregaard OJ. Modification-specific proteomics: characterization of post-translational modifications by mass spectrometry[J]. Current Opinion in Chem Biol, 2004, 8(1):33.
- [8] Yuan GB. Progress of mutation, diagnosis and treatment of gene in thyroid carcinoma[J]. Clin J Cancer Biother, 2009, 16(3):305.
- [9] Wreesmann VB, Siczka EM, Socci ND, et al. Genome-wide profiling of papillary thyroid cancer identifies MUC1 as an independent prognostic marker[J]. Cancer Res, 2004, 64(6):3780.
- [10] Mansfield ES, Sarwal MM. Arraying the orchestration of allograft pathology[J]. Am J Transplant, 2004, 4(6):853.
- [11] Schuster SC. Next-generation sequencing transforms today's biology[J]. Nat Methods, 2008, 5(1):16.
- [12] Sultan M, Schulz MH, Richard H, et al. A global view of gene activity and alternative splicing by deep sequencing of the human transcriptome [J]. Science, 2008, 321(5891):956.
- [13] Harris TD, Buzby PR, Babcock H, et al. Single-molecule DNA sequencing of a viral genome[J]. Science, 2008, 320(5872):106.
- [14] Mardis ER. The impact of next-generation sequencing technology on genetics [J]. Trends Genetics, 2008, 24(3):133.
- [15] Wang L, Zhu J, Deng C, et al. An automatic and quantitative on-chip cell migration assay using self-assembled monolayers combined with real-time cellular impedance sensing[J]. Lab Chip, 2008, 8(6):872.
- [16] Lee G J, Lee WS, Jeon KS, et al. cDNA Microarray Expression Analysis and Toxicological phenotype for Anticancer[J]. Drug, 2004, 66(11):1339.
- [17] Kunz M, Ibrahim SM, Koczan D, et al. DNA microarray technology and its applications in dermatology[J]. Exp Dermatol, 2004, 13(10):593.

(收稿日期:2010-03-15)

· 综 述 ·

组织工程支架和细胞的相互作用

向鸿照 综述, 王远亮, 杨维虎 审校

(重庆大学生物力学与组织工程教育部重点实验室 400044)

关键词:组织工程支架; 细胞; 收缩力

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.21.060

中图分类号:R318.1; Q813.1**文献标识码:**A**文章编号:**1671-8348(2010)22-3131-04

组织工程是把支架、细胞和生长因子三者相结合,用于病变、损伤部位组织和器官的修复、重建和再生。其中支架作为细胞外基质(ECM)的替代物,为细胞和生长因子负载提供一个3D环境。理想的支架除了应该具有足够的孔隙率以利于氧气和营养物质的运输,还要有足够的力学性能负载和刺激细胞,传递细胞信号,保证细胞的正常表型^[1-3]。因此,了解组织工程中细胞和支架的相互作用对组织和器官的制备具有重要的意义。

1 支架对细胞的作用

理解3D支架对细胞组织的作用是组织工程研究的重点。支架对细胞的刺激主要是通过支架的构型、机械性能和外力作用3种途径实现的,其中对3D支架的机械性能的评估是组织工程研究的关键。下面分别进行论述。

1.1 支架模量对细胞生理功能的影响 支架的机械性能对细胞的表型、生长、迁移和繁殖等生理活动起到调节和控制的作用^[4-5],其中支架刚性(主要指杨氏模量)对细胞行为的影响最

为重要。很难准确定义3D支架中细胞的形态和支架刚性之间的关系,因为支架中细胞的表型是一个物理和生化性质共同作用的复杂过程,除了考虑支架的模量外,还要考虑蛋白水解敏感性,细胞生长因子等因素。Daniel等^[6]在研究支架模量和蛋白水解敏感度对细胞表型的影响中,发现在柔顺支架中(0~100 Pa)生长的细胞更多表现出星形,而刚性较大(>500 Pa)的支架中生长的细胞则主要表现为圆球形,见图1。并且对于不同的细胞和支架其相关系数是变化的。支架模量除了影响细胞的形态之外,还控制细胞的分化和迁移功能^[7]。Engler和Jean^[8]研究发现,当间充质干细胞(MSCs)被种植在聚酰胺(PA)凝胶支架上时,通过控制支架基底的模量可以影响细胞的分化。此外,当支架的弹性模量分别相似于肌肉、脑和骨组织的弹性模量时,可以诱导细胞分化成肌细胞、神经元、成骨细胞。并且,基体模量直接诱导细胞骨架的肌动蛋白的重构。在细胞植入初期,支架基底的模量会影响相邻内皮细胞融合。在Engler和Jean^[8]的实验中 PLLA/PLGA 混合物的机械性能影