



矩形水凝胶微凹槽的空间约束调控人脐静脉内皮细胞的形态和排列*

江文丽, 钟健, 欧阳智, 沈钧怡, 邱艳, 曾焯[△]

四川大学华西基础医学与法医学院 生物医学工程研究室(成都 610041)

【摘要】目的 本研究拟构建微米级矩形水凝胶凹槽,探究人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)在三维空间约束条件下的形态和排列规律。**方法** 使用四臂-聚乙二醇-丙烯酸酯水凝胶制备宽度为60 μm、100 μm、140 μm的矩形微凹槽,检测其尺寸和纤连蛋白(fibronectin, FN)黏附情况;在FN包被的微凹槽中接种HUVECs,培养48 h后检测细胞的形态和取向,利用鬼笔环肽标记细胞骨架和激光共聚焦显微镜观察水凝胶微凹槽中HUVECs细胞骨架取向,以无微图案平面为对照。**结果** 构建的水凝胶微凹槽形态均一、结构完整,边缘清晰,宽度误差<3.5%,不同宽度水凝胶微凹槽的深度差异较小, FN黏附均匀,为细胞提供了微图案化的生长界面。对照组中细胞排列杂乱,取向随机,细胞取向角为(46.9±1.8)°,而水凝胶微凹槽中细胞取向角显著减小($P<0.001$),但随着水凝胶微凹槽宽度增加而增大,60 μm、100 μm、140 μm水凝胶微凹槽中细胞取向角分别为(16.4±2.8)°、(24.5±3.2)°、(30.3±3.5)°;与对照组相比较(35.7%),不同宽度水凝胶微凹槽中取向角<30°的细胞数量增多($P<0.001$),但随着水凝胶微凹槽宽度增加,取向角<30°的细胞数量逐渐减少(79.9%、62.3%、54.7%),而取向角60°~90°的细胞数量逐渐增加($P<0.001$)。微凹槽中细胞胞体变小、变圆,细胞沿微凹槽方向排列,细胞骨架排列发生相应改变,对照组中细胞骨架纤维丝排列方向随机,取向角为(45.5±3.7)°,各取向角内骨架纤维数量分布均匀,但60 μm、100 μm、140 μm的水凝胶微凹槽中的细胞骨架蛋白纤维取向角显著降低,分别为(14.4±3.1)°、(24.7±3.5)°、(31.9±3.3)°,不同宽度水凝胶微凹槽中取向角<30°的骨架纤维数量明显增加($P<0.001$),但随着水凝胶微凹槽宽度增加,取向角<30°的骨架纤维数量逐渐减少,而取向角60°~90°的骨架纤维数量逐渐增加($P<0.001$)。**结论** 水凝胶微凹槽可调控HUVECs形态与取向,在一定程度上可模拟血管内皮细胞的在体微环境,为研究血管内皮细胞的独特生理功能提供了更符合生理条件的实验模型,但三维空间约束影响血管内皮细胞形态和组装的分子机制有待进一步研究。

【关键词】 微图案 血管内皮细胞 细胞形态 细胞取向 细胞骨架

Spatial Constraints of Rectangular Hydrogel Microgrooves Regulate the Morphology and Arrangement of Human Umbilical Vein Endothelial Cells JIANG Wenli, ZHONG Jian, OUYANG Zhi, SHEN Junyi, QIU Yan, ZENG Ye[△].
Institute of Biomedical Engineering, West China School of Basic Medical Sciences and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: ye@scu.edu.cn

【Abstract】Objective To construct microscale rectangular hydrogel grooves and to investigate the morphology and alignment of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) under spatial constraints. Vascular endothelial cell morphology and alignment are important factors in vascular development and the maintenance of homeostasis. **Methods** A 4-arm polyethylene glycol-acrylate (PEG-acrylate) hydrogel was used to fabricate rectangular microgrooves of the widths of 60 μm, 100 μm, and 140 μm. The sizes and the fibronectin (FN) adhesion of these hydrogel microgrooves were measured. HUVECs were seeded onto the FN-coated microgrooves, while the flat surface without micropatterns was used as the control. After 48 hours of incubation, the morphology and orientation of the cells were examined. The cytoskeleton was labelled with phalloidine and the orientation of the cytoskeleton in the hydrogel microgrooves was observed by laser confocal microscopy. **Results** The hydrogel microgrooves constructed exhibited uniform and well-defined morphology, a complete structure, and clear edges, with the width deviation being less than 3.5%. The depth differences between the hydrogel microgrooves of different widths were small and the FN adhesion is uniform, providing a micro-patterned growth interface for cells. In the control group, the cells were arranged haphazardly in random orientations and the cell orientation angle was (46.9±1.8)°. In contrast, the cell orientation angle in the hydrogel microgrooves was significantly reduced ($P<0.001$). However, the cell orientation angles increased with the increase in hydrogel microgroove width. For the 60 μm, 100 μm, and 140 μm hydrogel microgrooves, the cell orientation angles were (16.4±2.8)°, (24.5±3.2)°, and (30.3±3.5)°, respectively. Compared to that of the control group (35.7%), the number of cells with orientation angles <30° increased significantly in the hydrogel microgrooves of different widths ($P<0.001$). However,

* 国家自然科学基金面上项目(No. 12272246)和四川省科技厅项目(No. 2023YFS0075)资助

[△] 通信作者, E-mail: ye@scu.edu.cn

出版日期: 2024-01-20

as the width of the hydrogel microgrooves increased, the number of cells with orientation angles $<30^\circ$ gradually decreased (79.9%, 62.3%, 54.7%, respectively), while the number of cells with orientation angles between 60° - 90° increased ($P<0.001$). The cell bodies in the microgrooves were smaller and more rounded in shape. The cells were aligned along the direction of the microgrooves and corresponding changes occurred in the arrangement of the cell cytoskeleton. In the control group, cytoskeletal filaments were aligned in random directions, presenting an orientation angle of $(45.5\pm 3.7)^\circ$. Cytoskeletal filaments were distributed evenly within various orientation angles. However, in the $60\ \mu\text{m}$, $100\ \mu\text{m}$, and $140\ \mu\text{m}$ hydrogel microgrooves, the orientation angles of the cytoskeletal filaments were significantly decreased, measuring $(14.4\pm 3.1)^\circ$, $(24.7\pm 3.5)^\circ$, and $(31.9\pm 3.3)^\circ$, respectively. The number of cytoskeletal filaments with orientation angles $<30^\circ$ significantly increased in hydrogel microgrooves of different widths ($P<0.001$). However, as the width of the hydrogel microgrooves increased, the number of cytoskeletal filaments with orientation angles $<30^\circ$ gradually decreased, while the number of cytoskeletal filaments with orientation angles between 60° - 90° gradually increased ($P<0.001$).

Conclusion Hydrogel microgrooves can regulate the morphology and orientation of HUVECs and mimic to a certain extent the *in vivo* microenvironment of vascular endothelial cells, providing an experimental model that bears better resemblance to human physiology for the study of the unique physiological functions of vascular endothelial cells. Nonetheless, the molecular mechanism of spatial constraints on the morphology and the assembly of vascular endothelial cell needs to be further investigated.

【Key words】 Micropatterning Vascular endothelial cell Cellular morphology Cell orientation Cytoskeleton

血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)衬于血管腔内表面,构成了动脉和静脉的内壁,也是毛细血管的主要组成细胞。ECs作为血液和血管壁之间的物理屏障,在物质交换、血管修复和血管新生等生理病理过程中发挥着重要作用^[1-2]。在生理环境下,ECs形态表现为薄、细、长,且细胞骨架沿血管壁长轴排列^[3]。研究显示,ECs形态和排列特性对血管稳态维持、血管网络形成十分重要^[4-5]。然而,在传统体外培养模式下,ECs表现为鹅卵石形,呈无序、随机排列,与在体生理状态的形态和排列存在较大差别,其主要原因可能是受到不同微环境的影响。在体微环境中,细胞排列受细胞-细胞/基质间的力学作用调控,组织中细胞之间拥挤所带来的空间约束也会影响细胞的诸多功能,如增殖、迁移等^[6-7]。研究表明,细胞几何形状或局部组织力学等物理参数可调节细胞分裂、极化等细胞行为及功能^[8-9]。因此,通过构建具有一定空间约束的体外培养环境,对探究ECs形态和排列特性有重要意义。

微图案技术是一种结合表面化学和材料特性的微细加工技术。通过微图案技术可以将细胞黏附肽或蛋白质固定到惰性表面,以便细胞黏附于特定区域^[10-11]。研究表明,在透明质酸水凝胶线形微图案中,脑微血管内皮细胞表现出手性偏差^[12]。管腔形貌微图案可使内皮集落细胞重新排列和对齐^[13]。但目前多数研究均采用二维结构微图案来探究ECs行为和功能,这类二维结构微图案仅能为细胞提供简单的地形黏附信息,并不具备三维空间约束性。故有必要通过构建具有一定空间约束性的体外三维培养条件,探究三维空间约束对内皮细胞行为的影响。

本研究拟制备不同宽度矩形水凝胶微凹槽,探究三

维空间约束对人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)形态和组装的影响,为深入研究细胞空间行为提供新的工具,同时也为血管稳态障碍相关疾病的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

1.1.1 细胞株、主要试剂和材料

HUVECs(北纳生物,中国)。3-甲基丙烯酸丙酯、四臂-聚乙二醇-丙烯酸酯(Sigma-Aldrich,美国);光敏引发剂PLPP溶液(Alvéole,法国);Alexa Fluor488标记的纤连蛋白(Invitrogen,美国);DMEM高糖培养基(Hyclone,美国);胎牛血清(Excell,乌拉圭);青霉素-链霉素(Invitrogen,美国);胰蛋白酶(Invitrogen,美国);牛血清白蛋白(Invitrogen,美国);体积分数4%多聚甲醛(索莱宝,中国);Alexa Fluor555鬼笔环肽(碧云天,中国);连结剂(3-甲基丙烯酸丙酯,Sigma-Aldrich,美国);纤连蛋白(Invitrogen,美国);PDMS薄膜(厚度为 $200\ \mu\text{m}$,美国)。

1.1.2 主要仪器

细胞微环境定制系统(Primo, Alvéol,法国);倒置荧光显微镜(Ti2E, Nikon,日本);倒置相差显微镜(Evos, Thermo Fisher,美国);LSM710激光扫描共聚焦显微镜(Carl Zeiss,德国);细胞培养箱(SANYO,日本);微量电子天平(Sartorius,德国)。

1.2 方法

1.2.1 水凝胶微凹槽构建

称取5 mg四臂-聚乙二醇-丙烯酸酯充分溶解于

100 μL 1 \times PLPP溶液, 制成质量体积比5%的水凝胶溶液。

将50 μL 玻片连结剂滴加在EP管盖中并放置在有盖玻片的培养皿中, 密闭静置30 min, 以增强水凝胶与玻片的黏合(图1)。先在盖玻片上放上由进液口、出液口和中间腔室组成的PDMS薄膜, 再用长方形PDMS薄膜覆盖中间腔室, 留下两边端口供液体进出。将5%水凝胶溶液经

反应腔的其中一个端口注入到PDMS腔中, 当另一个的端口有液体溢出时停止注入。使用细胞微环境定制系统, 采用自动模式, 以130 $\text{mJ}\cdot\text{mm}^{-2}$ UV强度使水凝胶溶液交联后, 吸去多余水凝胶溶液, 用PBS漂洗, 并滴加100 μL 质量浓度为50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的纤连蛋白(fibronectin, FN)溶液至铺有水凝胶的区域, 于37 $^{\circ}\text{C}$ 孵箱过夜。

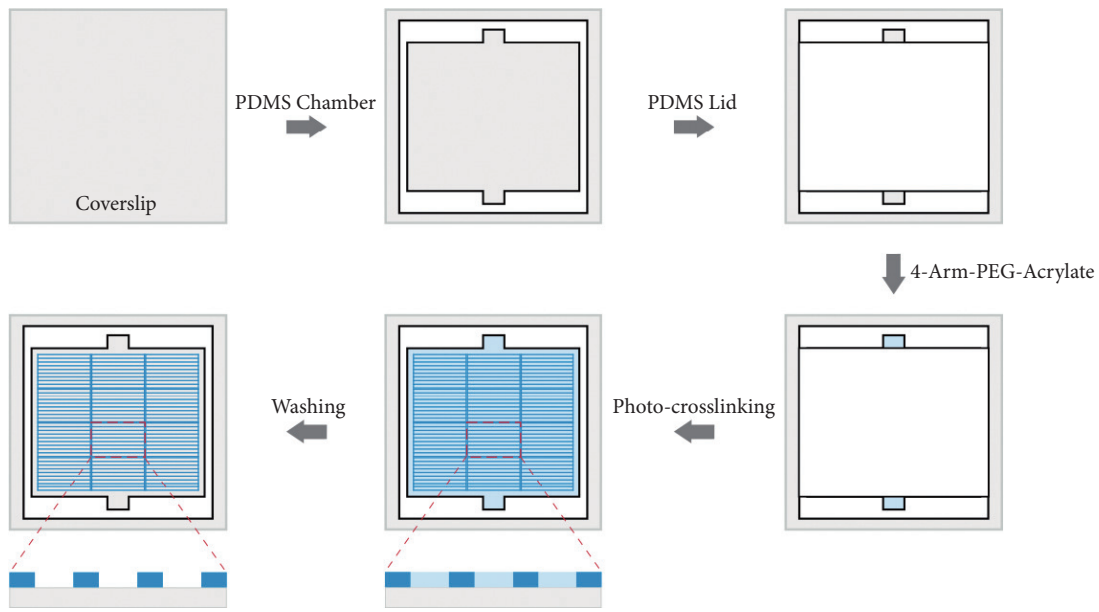


图 1 矩形水凝胶微凹槽制备模式图

Fig 1 Diagram of the preparation of the rectangular hydrogel microgrooves

1.2.2 细胞培养与接种

用含10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素的DMEM高糖培养基将HUVECs培养于37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数5% CO_2 的二氧化碳培养箱。待细胞融合至90%后用0.5%胰蛋白酶消化, 以 $2\times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 的密度在盖玻片上水凝胶区域均匀接种200 μL 细胞悬液, 于培养箱中静置2 h后, 吸去培养基以去除未贴壁细胞, 重新加入2 mL完全培养基, 于37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数5% CO_2 培养箱中继续培养48 h后进行后续实验。

1.2.3 细胞骨架染色

HUVECs培养48 h, 经固定、通透后, 使用 Alexa Fluor555标记的鬼笔环肽(1 : 800, 1%BSA/PBS)室温避光孵育1 h后, 使用DAPI溶液(3 nmol/mL)标记细胞核, 并用共聚焦显微镜采集图像。

1.2.4 细胞形态分析

利用Image J(v1.8.0, 美国NIH)评价细胞形态。通过手动描摹细胞轮廓并使用椭圆拟合获得细胞大小、形态指数和几何中心, 细胞圆度用形态指数评估, 形态指数等于 $4\pi\times\text{面积}/\text{周长}^2$ 。面积以 μm^2 为单位, 周长以 μm 为单位。形态指数越接近1表明细胞越趋于圆形。以无微图案平面为对照。

1.2.5 细胞及骨架取向分析

细胞取向角为穿过细胞几何中心的长轴与矩形微凹槽形成的夹角; 细胞骨架蛋白纤维丝的取向角为细胞骨架纤维丝与矩形微凹槽形成的夹角。夹角范围均为 0° 至 90° , 0° 表明细胞取向和骨架与矩形微凹槽方向一致, 90° 则表明细胞取向和骨架垂直于矩形微凹槽方向。以无微图案平面为对照。

1.2.6 统计学方法

定量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 每个实验至少重复3次。所有实验数据统计分析均采用SPSS软件(v21.0, 美国IBM)进行单因素方差分析(ANOVA)和LSD事后检测, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 水凝胶微凹槽表征

根据设计示意图(图2A左), 本研究构建了宽度为60 μm 、100 μm 、140 μm 矩形水凝胶微凹槽(图2A中)。光学显微镜显示, 构建的微凹槽形态均一、结构完整, 边缘清晰, 实际宽度分别为(59.4 \pm 2.0) μm 、(98.4 \pm 2.2) μm 、(140.0 \pm 1.2) μm , 误差 $<3.5\%$ (图2B)。微凹槽纵截面成像

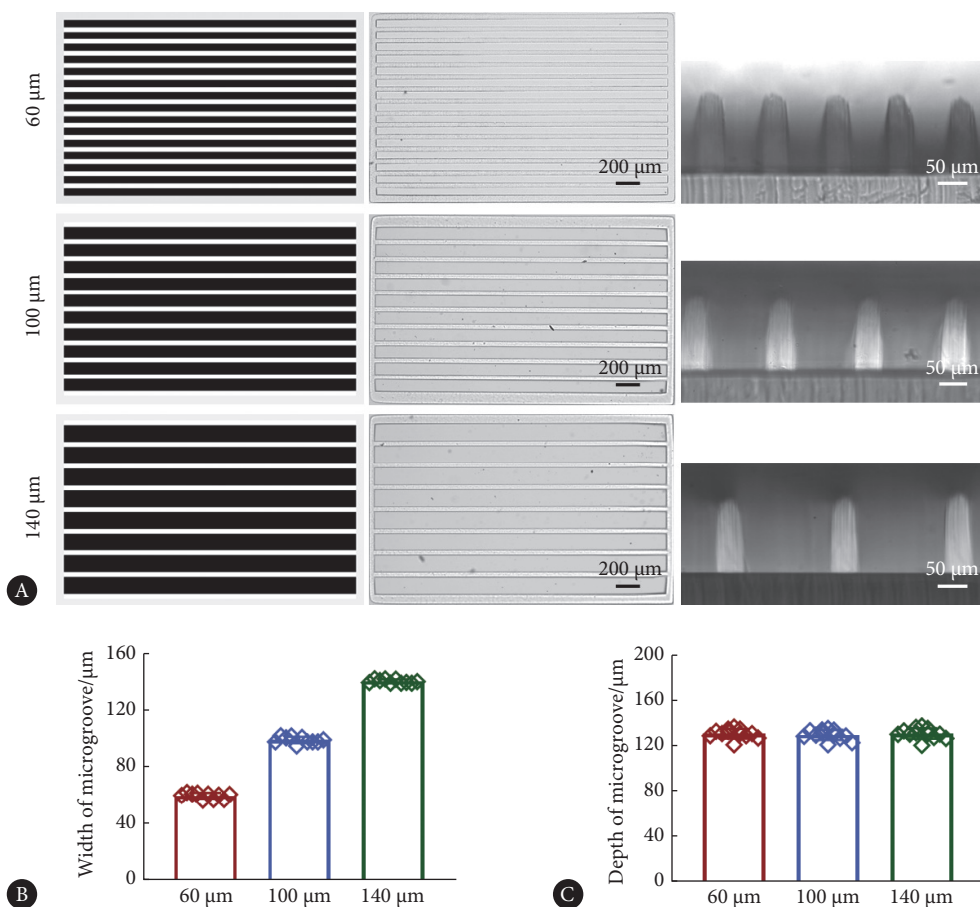


图 2 光学显微镜下观察到的水凝胶微凹槽形貌

Fig 2 Morphology of the hydrogel microgrooves observed under optical microscope

Schematic diagram of the microgrooves of different widths (A-Left), morphology of the microgrooves (A-Middle), and the longitudinal section of the microgrooves (A-Right); the width (B) and depth (C) of microgrooves. $n=12$.

(图 2A 右) 和深度定量结果显示, 实际深度分别为 $(130.5 \pm 4.0) \mu\text{m}$ 、 $(129.4 \pm 4.3) \mu\text{m}$ 、 $(130.5 \pm 4.4) \mu\text{m}$ (图 2C)。以上结果表明, 本研究成功制备了宽度和深度可控的高精度矩形水凝胶微凹槽。

2.2 水凝胶微凹槽 FN 黏附情况

用 Alexa Fluor488 标记的 FN 包被水凝胶微凹槽过夜。荧光显微镜下显示, 不同宽度水凝胶微凹槽中均呈现明显的绿色荧光, 而间隔区水凝胶表面未观察到荧光

(图 3), 提示 FN 仅黏附在水凝胶微凹槽中, 且黏附区域均匀、整齐, 为细胞生长提供了良好的生物学界面, 可用于后续研究。

2.3 水凝胶微凹槽对 HUVECs 形态和取向的影响

HUVECs 在不同宽度水凝胶微凹槽中培养 48 h 后, 倒置相差显微镜观察显示, FN 包被的玻片表面细胞较细长, 呈现鹅卵石状(图 4A)。以无微图案平面为对照组, 水凝胶微凹槽中细胞的胞体均小于对照组 ($P < 0.001$), 细胞

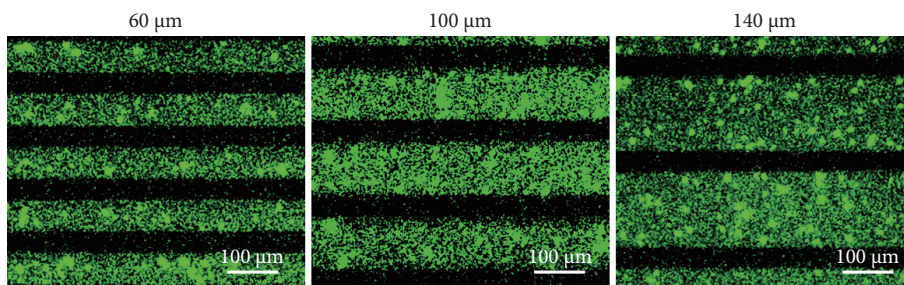


图 3 水凝胶微凹槽中纤连蛋白的黏附情况

Fig 3 Fibronectin adhesion in the hydrogel microgrooves

The fluorescence images of the adherence of Alexa Fluor488-labeled fibronectin ($50 \mu\text{g}/\text{mL}$) in the microgrooves.

胞体随着水凝胶微凹槽宽度增加而逐渐变大(图4B)。宽度为60 μm和100 μm水凝胶微凹槽中细胞形态指数高于对照组($P < 0.001$ 和 $P < 0.05$, 图4C), 而宽度为140 μm水凝胶微凹槽中细胞形态指数与对照组无明显差异。

对各组中细胞的取向分析发现, 对照组中细胞排列杂乱, 取向随机, 细胞取向角为 $(46.9 \pm 1.8)^\circ$, 而水凝胶微凹槽中细胞取向角显著减小($P < 0.001$), 但随着水凝胶微

凹槽宽度增加而增加, 分别为 $(16.4 \pm 2.8)^\circ$ 、 $(24.5 \pm 3.2)^\circ$ 、 $(30.3 \pm 3.5)^\circ$ ($P < 0.001$, 图4D)。

对照组取向角在 $0^\circ \sim < 30^\circ$ 、 $30^\circ \sim < 60^\circ$ 、 $60^\circ \sim 90^\circ$ 之间细胞数量分布均匀, 各取向角细胞比例分别占35.7%、33.9%、30.4%(图4E)。与对照组相比, 60 μm、100 μm、140 μm水凝胶微凹槽中取向角小于 30° 的细胞数量增加($P < 0.001$, 图4E), 分别为79.9%、62.3%、54.7%, 取向角大

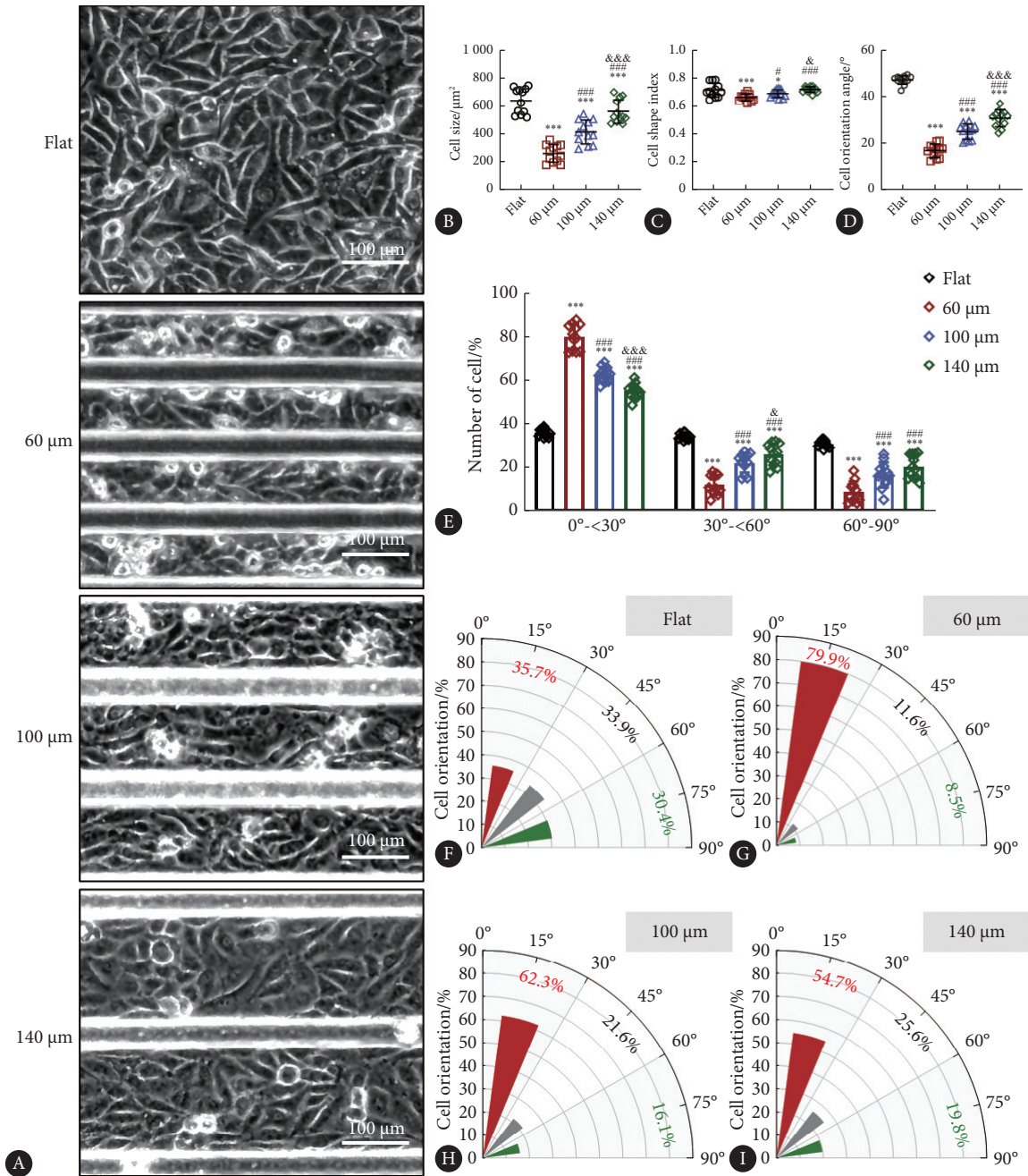


图 4 不同宽度水凝胶微凹槽中HUVECs的形态

Fig 4 Morphology of HUVECs in the hydrogel microgrooves of different widths

A, Images of HUVECs grown for 48 h. B, Cell size. C, Cell shape index. D, Cell orientation angle. E, The percentage of cells with orientation angles in the ranges of $0^\circ - < 30^\circ$, $30^\circ - < 60^\circ$, and $60^\circ - 90^\circ$, respectively, in the total number of cells. F-I, The percentage of cells with orientation angles in the ranges of $0^\circ - < 30^\circ$, $30^\circ - < 60^\circ$ and $60^\circ - 90^\circ$, respectively. * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, vs. Flat; † $P < 0.05$, ‡‡‡ $P < 0.001$, vs. 60 μm ; § $P < 0.05$, §§§§ $P < 0.001$, vs. 100 μm . 00 μm . $n = 12$.

于 30° 的细胞数量则显著降低($P < 0.001$, 图4G~4I)。但随着水凝胶微凹槽宽度增加,取向角 $< 30^\circ$ 的细胞数量逐渐减少,而取向角在 $60^\circ \sim 90^\circ$ 之间的细胞数量则逐渐增加,分别为8.5%、16.1%、19.8%。

2.4 水凝胶微凹槽对HUVECs细胞骨架取向的影响

对HUVECs细胞骨架荧光染色发现, FN包被的玻璃片表面细胞骨架纤维丝排列方向随机,取向角为 $(45.5 \pm 3.7)^\circ$ (图5A)。与对照组相比,水凝胶微凹槽中的细胞骨架蛋白纤维取向角均降低($P < 0.001$, 图5B),宽度为 $60 \mu\text{m}$ 、

$100 \mu\text{m}$ 、 $140 \mu\text{m}$ 的水凝胶微凹槽中的细胞骨架蛋白纤维取向角分别为 $(14.4 \pm 3.1)^\circ$ 、 $(24.7 \pm 3.5)^\circ$ 、 $(31.9 \pm 3.3)^\circ$ 。

对取向角在 $0^\circ \sim < 30^\circ$ 、 $30^\circ \sim < 60^\circ$ 、 $60^\circ \sim 90^\circ$ 之间的骨架纤维数量占总量的百分比分析发现,对照组中各取向角内骨架纤维数量分布均匀,各组水凝胶微凹槽中取向角 $< 30^\circ$ 的骨架纤维数量显著增加($P < 0.001$, 图5C), $\geq 30^\circ$ 的数量则显著降低($P < 0.001$, 图5C)。但随着水凝胶微凹槽宽度增加,取向角 $< 30^\circ$ 的骨架纤维数量逐渐减少,而取向角在 $60^\circ \sim 90^\circ$ 之间的骨架纤维数量则逐渐增加。

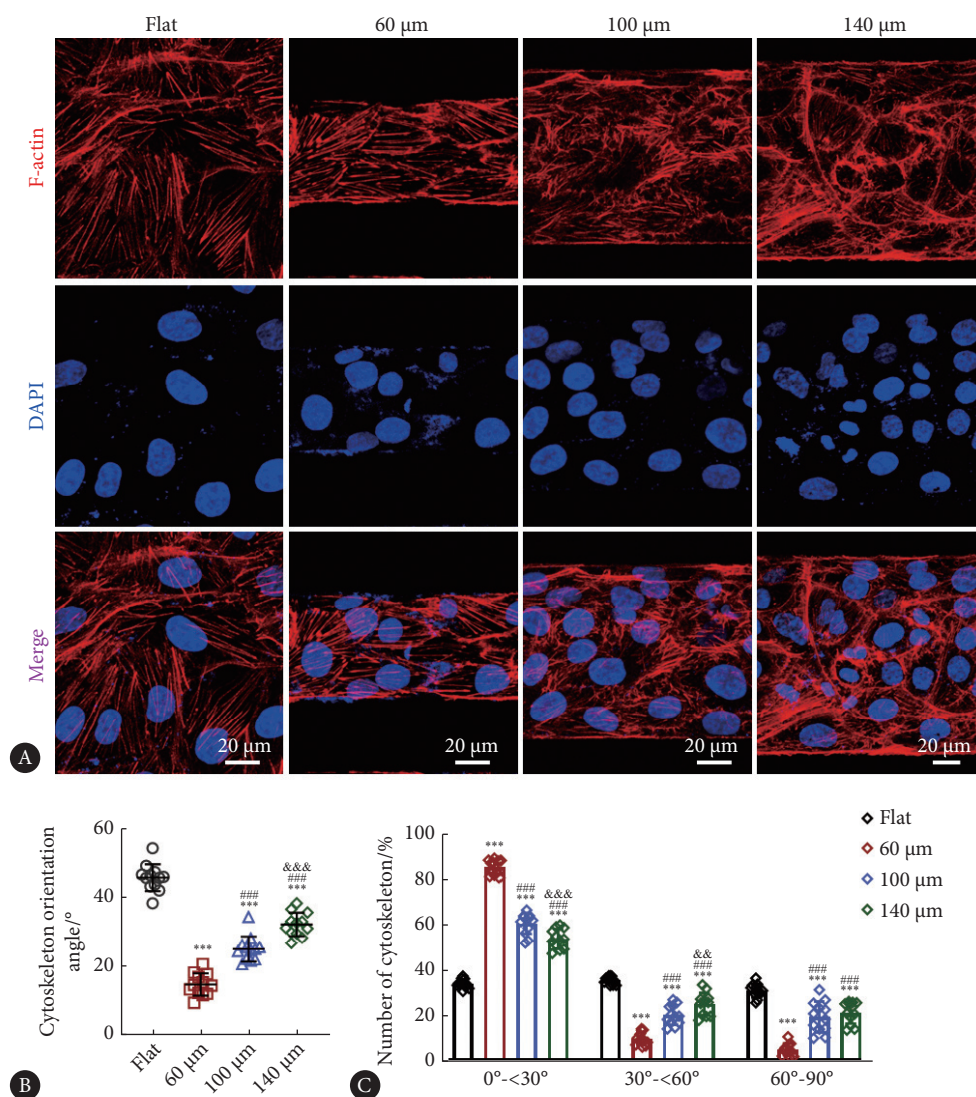


图 5 HUVECs细胞骨架共聚焦显微镜图像

Fig 5 Confocal microscopic images of the cytoskeleton of HUVECs

A, Laser confocal microscopic images of cytoskeletal actin fibers in HUVECs grown for 48 h; B, cytoskeletal actin fiber orientation angles; C, percentage of the number of skeletal actin fibers in the range of $0^\circ \sim < 30^\circ$, $30^\circ \sim < 60^\circ$, and $60^\circ \sim 90^\circ$, respectively. *** $P < 0.001$, vs. Flat; ** $P < 0.01$, vs. $60 \mu\text{m}$; * $P < 0.05$, vs. $100 \mu\text{m}$. $n=12$.

3 讨论

本研究利用无掩膜光刻技术,在玻片上制备了不同

宽度的矩形水凝胶微凹槽,并分析了空间约束下HUVECs的形态和排列。

该水凝胶微凹槽宽度精确、深度稳定,为细胞生长提

供了良好的生物学界面。利用微凹槽培养的细胞形态和骨架排列较平坦表面上的细胞更接近于在体生理状态。如胶原微槽中的血管平滑肌细胞胞体和F-肌动蛋白丝均沿微槽方向排列, 呈现近生理的状态^[14]。研究发现, 原代HUVECs与平滑肌细胞在钛表面的透明质酸微条纹上共培养1 d后, HUVECs取向角显著降低^[15]。本研究发现HUVECs细胞株与原代HUVECs细胞一样, 可以受到表面微图案形貌的影响, 在水凝胶微凹槽中, 其取向沿微凹槽方向明显增强, 与文献研究结果相似。随着水凝胶微凹槽宽度增加, 细胞和骨架纤维的取向角 $< 30^\circ$ 的数量逐渐减少, 而取向角 $60^\circ \sim 90^\circ$ 的数量均逐渐增加, 表明细胞取向受空间约束的作用随宽度增加而逐渐下降。但宽度对细胞取向的空间约束作用, 仍需利用原代细胞在后续实验中完成进一步验证。

研究表明, 脑血管内皮细胞可以在宽度为 $10 \sim 100 \mu\text{m}$ 的线形二维结构表面黏附生长^[16]。本研究中, 在宽度 $40 \mu\text{m}$ 水凝胶微凹槽中, 48 h以后几乎没有HUVECs黏附(数据未显示)。在宽度 $60 \sim 140 \mu\text{m}$ 水凝胶微凹槽中, HUVECs可以黏附、增殖和生长, 并发生取向变化, 提示水凝胶微凹槽宽度是影响细胞黏附、取向的重要因素, 三维微凹槽对HUVECs施加了不同于二维结构的空间约束力。

细胞可响应胞外微环境, 基底微拓扑结构的引导下, 通过细胞-细胞/基质相互作用力-整合素-细胞骨架途径, 发生形态和生物学行为变化^[17]。本研究发现细胞骨架与细胞形态的变化存在一定的相关性, 但整合素在介导水凝胶微凹槽对血管内皮细胞形态调控中的作用尚需进一步研究。其他细胞骨架元件如微管、中间丝等的具体变化也值得进一步探索。

本研究制备的高精度微米级水凝胶凹槽可调控ECs形态与取向。通过体外构建取向性微图案, 在一定程度上重现了血管内皮细胞的在体微环境, 可以模拟在体血管内皮细胞的取向性排列, 为研究血管内皮细胞的独特生理功能提供了更符合生理条件的实验模型^[18], 有望为血管内皮细胞生物行为的调控和心脑血管疾病的干预和治疗提供新靶点。

* * *

作者贡献声明 江文丽负责数据审编、正式分析、调查研究、研究方法、验证、可视化和初稿写作, 钟健负责数据审编、正式分析和研究方法, 欧阳智负责正式分析、调查研究和监督指导, 沈钧怡和邱艳负责调查研究、研究方法和可视化, 曾焯负责论文构思、数据审编、正式分析、经费获取、研究方法、项目管理、提供资源、监督指导、可视化和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊, 且对将要发表的版本进行最终定稿, 并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution JIANG Wenli is responsible for data curation,

formal analysis, investigation, methodology, validation, visualization, and writing--original draft. ZHONG Jian is responsible for data curation, formal analysis, and methodology. OUYANG Zhi is responsible for formal analysis, investigation, and validation. SHEN Junyi and QIU Yan are responsible for investigation, methodology, and visualization. ZENG Ye is responsible for conceptualization, data curation, formal analysis, funding acquisition, methodology, project administration, resources, supervision, visualization, and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] KRÜGER-GENGE A, BLOCKI A, FRANKE R P, *et al.* Vascular endothelial cell biology: an update. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4411. doi: 10.3390/ijms20184411.
- [2] SUMPPIO B E, RILEY J T, DARDIK A. Cells in focus: endothelial cell. *Int J Biochem Cell Biol*, 2002, 34(12): 1508–1512. doi: 10.1016/S1357-2725(02)00075-4.
- [3] FALLON M E, HINDS M T. Single cell morphological metrics and cytoskeletal alignment regulate VCAM-1 protein expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 555: 160–167. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.03.129.
- [4] STEWARD R, Jr, TAMBE D, HARDIN C C, *et al.* Fluid shear, intercellular stress, and endothelial cell alignment. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2015, 308(8): C657–C664. doi: 10.1152/ajpcell.00363.2014.
- [5] CHEN J, ZHANG D, LI Q, *et al.* Effect of different cell sheet ECM microenvironment on the formation of vascular network. *Tissue Cell*, 2016, 48(5): 442–451. doi: 10.1016/j.tice.2016.08.002.
- [6] STREICHAN S J, HOERNER C R, SCHNEIDT T, *et al.* Spatial constraints control cell proliferation in tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(15): 5586–5591. doi: 10.1073/pnas.1323016111.
- [7] MILANO D F, NGAI N A, MUTHUSWAMY S K, *et al.* Regulators of metastasis modulate the migratory response to cell contact under spatial confinement. *Biophys J*, 2016, 110(8): 1886–1895. doi: 10.1016/j.bpj.2016.02.040.
- [8] NELSON C M, JEAN R P, TAN J L, *et al.* Emergent patterns of growth controlled by multicellular form and mechanics. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(33): 11594–11599. doi: 10.1073/pnas.0502575102.
- [9] LIU W, SUN Q, ZHENG Z L, *et al.* Topographic cues guiding cell polarization via distinct cellular mechanosensing pathways. *Small*, 2022, 18(2): e2104328. doi: 10.1002/smll.202104328.
- [10] HAGEN M W, HINDS M T. Static spatial growth restriction micropatterning of endothelial colony forming cells influences their morphology and gene expression. *PLoS One*, 2019, 14(6): e0218197. doi: 10.1371/journal.pone.0218197.
- [11] Van Der PUTTEN C, BUSKERMOLLEN A B C, WERNER M, *et al.*

- Protein micropatterning in 2.5D: an approach to investigate cellular responses in multi-cue environments. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13(22): 25589–25598. doi: 10.1021/acsami.1c01984.
- [12] PORRAS HERNÁNDEZ A M, TENJE M, ANTFOLK M. Cell chirality exhibition of brain microvascular endothelial cells is dependent on micropattern width. *RSC Adv*, 2022, 12(46): 30135–30144. doi: 10.1039/D2RA05434E.
- [13] HAGEN M W, HINDS M T. The effects of topographic micropatterning on endothelial colony-forming cells. *Tissue Eng Part A*, 2021, 27(3/4): 270–281. doi: 10.1089/ten.tea.2020.0066.
- [14] NAGAYAMA K. A loss of nuclear-cytoskeletal interactions in vascular smooth muscle cell differentiation induced by a micro-grooved collagen substrate enabling the modeling of an *in vivo* cell arrangement. *Bioengineering (Basel)*, 2021, 8(9): 124. doi: 10.3390/bioengineering8090124.
- [15] LI J, ZHANG K, XU Y, *et al.* A novel coculture model of HUVECs and HUASMCs by hyaluronic acid micropattern on titanium surface. *J Biomed Mater Res A*, 2014, 102(6): 1950–1960. doi: 10.1002/jbm.a.34867.
- [16] PORRAS HERNÁNDEZ A M, BARBE L, POHLIT H, *et al.* Brain microvasculature endothelial cell orientation on micropatterned hydrogels is affected by glucose level variations. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 19608. doi: 10.1038/s41598-021-99136-9.
- [17] LEVINA E M, KHARITONOVA M A, ROVENSKY Y A, *et al.* Cytoskeletal control of fibroblast length: experiments with linear strips of substrate. *J Cell Sci*, 2001, 114(Pt 23): 4335–4341. doi: 10.1242/jcs.114.23.4335.
- [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. *Biomaterials*, 2012, 33(29): 6943–6951. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.06.057.

(2023-04-17收稿, 2023-09-01修回)

编辑 何学令



开放获取

Open Access

© 2024 《四川大学学报(医学版)》编辑部 版权所有

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Science)*

本刊征稿启事

《四川大学学报(医学版)》(原《华西医科大学学报》)是由教育部主管、四川大学主办的综合性医药类学术刊物,以报道医学相关学科的科研成果为主。主要阅读对象为从事医药卫生工作的科研人员及高等医药院校的师生。2021年起,本刊设有专家笔谈、专家共识、指南解读、医学教育、论著、临床研究及新技术新方法等栏目。

创刊以来,本刊曾荣获各级部门颁发的数次荣誉称号,如全国优秀科技期刊一等奖、国家期刊奖提名奖、国家期刊奖百种重点期刊奖、教育部中国高校精品科技期刊、中国国际影响力优秀学术期刊、中国高校编辑出版质量优秀科技期刊、中国高校百佳科技期刊等。现已被中国科技论文与引文数据库(CSTPCD)、中国科学引文数据库(CSCD)(核心版)、北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》、中国学术期刊网全文数据库(CNKI)、美国《医学索引》(IM/Medline)、美国生物医学全文数据库PubMed Central(PMC)、美国EBSCO学术数据库、美国《生物学文摘》(BA)、美国《化学文摘》(CA)、荷兰《文摘与引文数据库》(Scopus)、日本科学技术振兴机构数据库(JST)等检索系统收录。

凡属于国家重点研发计划、国家自然科学基金及其他部省级以上科研基金资助的来稿或具有创新性、实用性等的来稿,编辑部将优先发表。欢迎积极投稿!

本刊在线投稿网址: <https://ykxb.scu.edu.cn>

地址: 四川省成都市人民南路三段17号《四川大学学报(医学版)》编辑部

邮政编码: 610041

联系电话: (028)85501320, (028)85500106

E-mail: scuxbyxb@scu.edu.cn

《四川大学学报(医学版)》编辑部