

# 流体剪切力下 CD44-HA 介导的 MDA-MB-231 细胞及 HL60 细胞的滚动黏附

张颖, 方颖, 吴建华, 林余, 马琳琳  
(华南理工大学 生物科学与工程学院, 生物力学研究所, 广州 510006)

**摘要:**目的 探究胞外基质中的透明质酸(hyaluronic acid, HA)如何调控血流中 CD44<sup>+</sup>肿瘤细胞的黏附滚动行为。**方法** 采用平行平板流动腔装置,观察记录流场中 MDA-MB-231 细胞及 HL60 细胞在固定 HA 上的运动,提取细胞滚动黏附特征参数。**结果** MDA-MB-231 细胞在 HA 底板上的黏附受到 HA 浓度的正向调控,但不受 HA 分子量影响;与物理吸附相比,生物素-亲和素固定的 HA 可显著提高细胞的黏附比率。在 30~50 mPa 剪切力范围内,剪切力的增加加快了细胞的滚动速度,降低了细胞的黏附比率,但对细胞的栓缚时间影响不大。同样流场中,与 MDA-MB-231 细胞比较,CD44 表达水平较低的 HL60 细胞在 HA 底板上的栓缚时间短、滚动速度快、黏附比率低(<1.5%)。**结论** 流体剪切力可能通过调节 CD44-HA 的结合速率而非解离速率来调控 MDA-MB-231 细胞的滚动速度;CD44-HA 相互作用参与 HL60 细胞的初始黏附,但不起主要作用。研究结果为抗肿瘤药物的开发提供参考。

**关键词:** CD44; 透明质酸; 肿瘤细胞; 细胞黏附; 流体剪切力

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2023.02.003

## CD44-HA Mediate Adhesion of MDA-MB-231 Cells and HL60 Cells under Fluid Shear Flow

ZHANG Ying, FANG Ying, WU Jianhua, LIN Yu, MA Linlin

(Institute of Biomechanics, School of Bioscience and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China)

**Abstract: Objective** To explore how hyaluronic acid (HA) in extracellular matrix regulates the adhesion of CD44<sup>+</sup> tumor cells. **Methods** MDA-MB-231 cells or HL60 cells were perfused in a parallel plate chamber. The movement of cells over immobilized HA was observed and analyzed to obtain the characteristics of cell adhesion and rolling. **Results** The adhesion number of MDA-MB-231 cells on HA substrate was positively regulated by HA concentration, but not by HA molecular weight. Compared with physically adsorbed HA, immobilized HA by avidin-biotin could significantly improve the cell adhesion ratio. With the increase of shear stress in the range of 30-50 mPa, the rolling velocity of cells increased and the adhesion ratio decreased, but the tether lifetime of cells was not affected. In the same flow field, compared with MDA-MB-231 cells, HL60 cells with low expression of CD44 rolled more quickly on immobilized HA, with shorter tether lifetime and much lower adhesion ratio (<1.5%). **Conclusions** Fluid shear stress might mediate the rolling velocity of MDA-MB-231 cells by regulating the CD44-HA association rate rather than their dissociation rate. The interaction between CD44 and HA is involved

in the initial adhesion of HL60 cells, but it does not play a major role. This study will provide references for the design of anti-tumor drugs.

**Key words:** CD44; hyaluronic acid (HA); tumor cell; cell adhesion; fluid shear stress

肿瘤转移是一个复杂且精细的过程,涉及原位扩散、内渗进入血管或淋巴管成为循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)、CTCs脱离循环系统外渗到其他组织部位、进而适应微环境定植成为微转移灶等多个环节,也是恶性肿瘤难以治愈的重要原因之一<sup>[1]</sup>。作为肿瘤干细胞的生物标记物,CD44高水平表达于多种恶性肿瘤细胞上,由配体结合域、近膜端域、跨膜域和胞质域等4个区域组成,无论标准型或是变异型CD44都含高保守的配体结合域,可结合多种配体,如透明质酸(hyaluronic acid, HA)、选择素和胶原等。CD44与胞外配体结合后,胞质域与细胞骨架上适配蛋白相连,募集基质金属蛋白酶,激活下游信号通路,导致其胞外域和胞内域相继被酶切,胞内域入核参与调控肿瘤的生长、凋亡、转移等过程<sup>[2-4]</sup>。

作为CD44的主要配体HA是哺乳动物细胞胞外基质的主要组成成分,并富集于受损组织中<sup>[5]</sup>。人体内存在的HA分子量范围非常广泛(6.4 kDa~2 MDa)。研究表明,不同分子量HA与CD44结合,表现出迥异的细胞行为:CD44结合低分子量HA会促进血管生成和炎症反应等;结合高分子量HA则亲和力更强,会促进肿瘤迁移,抑制肿瘤增殖、炎症反应和免疫抑制等<sup>[3,6]</sup>。

由于HA可结合CTCs表面的CD44介导CTCs的黏附,是启动CTCs外渗、转移与定植级联过程至关重要的第1步,故CD44-HA的相互作用引起了研究者广泛的兴趣,也是肿瘤临床治疗关注的靶点之一<sup>[7-8]</sup>。但目前大多数的研究局限于肿瘤扩散过程或定植后,不同分子量HA及其构成的基底硬度对肿瘤细胞黏附、爬行、侵袭及增殖的影响<sup>[6-7,9]</sup>。血液循环中,有大量的工作关注E-选择素/CD44介导的淋巴细胞的黏附与归巢<sup>[10-11]</sup>,以及CD44突变与否对HA介导的细胞或微珠滚动速度的影响<sup>[12-15]</sup>。与E-选择素/CD44相比,基于表面等离子共振技术的数据表明,HA/CD44的平衡解离常数 $K_D$ 要低2~4个数量级<sup>[16-17]</sup>。但是,有关HA分子量及附着状态如何调控肿瘤细胞

或血液细胞黏附的研究鲜有报道,CD44-HA在介导循环实体瘤细胞与血细胞中的角色是否存在差异也尚不清晰。基于此,本文选取乳腺癌MDA-MB-231细胞和急性白血病HL60细胞,采用平行平板流动腔系统,系统测定HA分子量、浓度和包被方式对细胞黏附的影响,探究流场中细胞黏附行为差异背后的分子调节机制,以期加深对恶性肿瘤转移过程的理解,为寻找更加有效的临床治疗方法和策略提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

端部一个生物素标签的10 kDa HA (Creative PEGWorks公司,美国);1 500 kDa HA (Lifecore公司,美国);亲和素(Solarbio Life Sciences公司,中国);CD44阻断性抗体Hermes-1 (Thermo Fisher Scientific公司,美国);CD44识别抗体(Sino Biological公司,中国);细胞解离液(StemCell Technologies公司,加拿大);MDA-MB-231细胞、HL60细胞(中国科学院细胞库)。

### 1.2 细胞提取

长至细胞密度为80%时,HL60细胞离心再用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)重悬,MDA-MB-231细胞加入细胞解离液孵育30 min,离心后PBS重悬,使细胞浓度达 $1 \times 10^6$ 个/mL。

### 1.3 细胞形态学

两款细胞用2% BSA重悬且反应30 min后,滴在玻片上静置,60倍镜下测量细胞直径。

### 1.4 流式细胞术

细胞液中加入CD44抗体(1:1 000),细胞处理及流式细胞术方法同文献[18]。

### 1.5 平行平板流动腔实验

**1.5.1 底板功能化** 采用物理吸附及生物素-亲和素结合方式将不同浓度(10、100、1 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、不同分子量(10、1 500 kDa)的HA分子固定在底板上,包被方法同文献[18]。

**1.5.2 特异性黏附实验** 采用的流动腔实验系统

参见文献[19]。待流场稳定后,10倍镜下以100帧/s记录近壁面细胞滚动及3min后底板上黏附的细胞数。设置CD44阻断组,即在细胞悬浮液中加入10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 抗CD44抗体,以阻断CD44-HA的特异性黏附。

**1.5.3 各类黏附事件定义** ① 瞬间拴缚:细胞与底板分子发生相互作用导致瞬时速度骤然下降,当分子键断裂后再加速离开,一般认为由单键介导,细胞与底板接触时间尺度为 $\mu\text{s}$ 水平<sup>[20]</sup>;② 滚动:细胞与底板发生持续接触并滚动一段距离,一般认为细胞与底板分子同时有两个分子键存在,后键断裂、新前键的形成导致滚动,即go-stop模型<sup>[21]</sup>;③ 稳定黏附:细胞减速后停留,期间位移小于1个细胞直径,有多分子键形成。

## 1.6 统计学分析

每个实验条件进行3次平行实验,用平均值 $\pm$ 标准差表示。两组数据之间采用双尾 $t$ 检验;多组数据视具体情况先进行单因素或双因素方差分析,再进行Tukey多重比较。

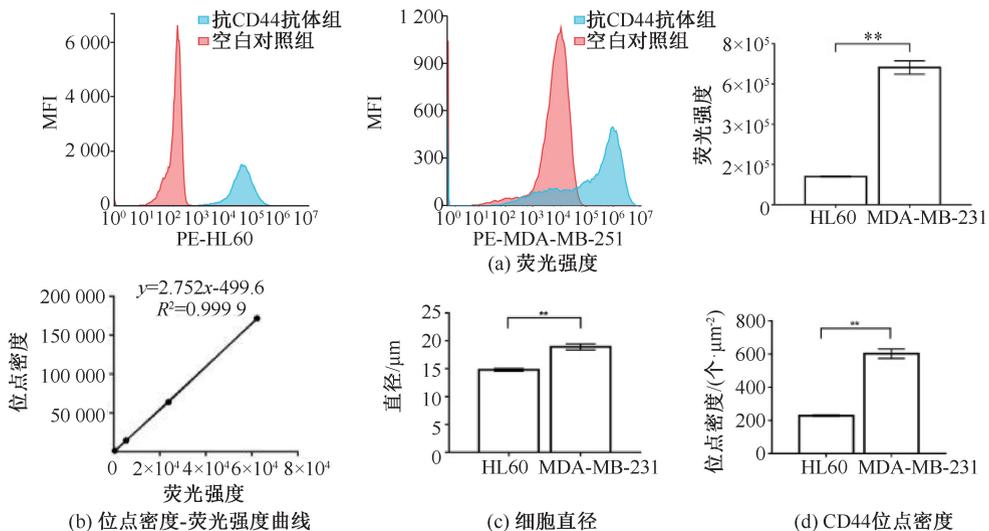


图1 CD44表达量

Fig. 1 CD44 expression levels (a) Fluorescence intensity, (b) Site density-fluorescence intensity curve, (c) Cell diameter, (d) CD44 site density

注: \*\* $P \leq 0.01$ , \* $P \leq 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 MDA-MB-231细胞及HL60细胞上CD44的位点密度

尽管研究表明,MDA-MB-231细胞和HL60细胞都为CD44<sup>+</sup>细胞,但它们表面表达的CD44分子密度未明<sup>[2]</sup>。本文采用流式细胞术测定两款细胞膜上CD44的荧光强度。结果显示,两款细胞上均表达CD44,但MDA-MB-231细胞的表达水平显著高于HL60细胞,前者的平均荧光强度是后者的5倍[见图1(a)、(b)]。由于这两株细胞大小不同,至少各测量50个细胞的直径,并按荧光抗体供应商提供的标准球荧光强度与分子数的线性关系,计算CD44的位点密度。结果发现,MDA-MB-231细胞与HL60细胞的平均直径分别为19、14 $\mu\text{m}$ ;CD44的位点密度分别为602、228个/ $\mu\text{m}^2$ ,前者约为后者的3倍[见图1(c)、(d)]。因此,无论CD44分子总数还是单位面积的分子数,MDA-MB-231细胞均远高于HL60细胞。

### 2.2 HA浓度及分子量对MDA-MB-231细胞黏附的影响

为探明流场下HA浓度及分子量对捕获随流细胞能力的影响,本文采用平行平板流动腔系统,将3种浓度(10、100、1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )10、1500kDa分子

量的HA物理吸附于流动腔底板上,在30mPa流场中灌注MDA-MB-231细胞悬浮液,观察细胞的黏附。

结果表明,相比于空白组,2%BSA可有效阻断细胞的非特异性黏附;相比于BSA组,1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$

的 10 kDa HA+ 2% BSA 组细胞黏附量显著增加;但是,当细胞用 CD44 阻断性抗体预处理后,HA 底板上黏附细胞数又降至 BSA 组水平,表明 MDA-MB-231 细胞黏附确实是 CD44-HA 特异性介导[见图 2(a)]。

同分子量下细胞黏附数均随 HA 浓度增加而增加;同浓度条件下随 HA 分子量增加,细胞黏附数略

有增加[见图 2(b)]。双因素方差分析发现,HA 浓度对细胞黏附的影响极其显著( $F = 30.94, P < 0.0001$ ),在 10~1 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度范围内,HA 浓度正向调控细胞黏附;而 HA 分子量对细胞黏附的影响无统计学意义( $F = 4.57, P > 0.05$ )。因此,后续研究中 HA 分子量选择为 10 kDa。

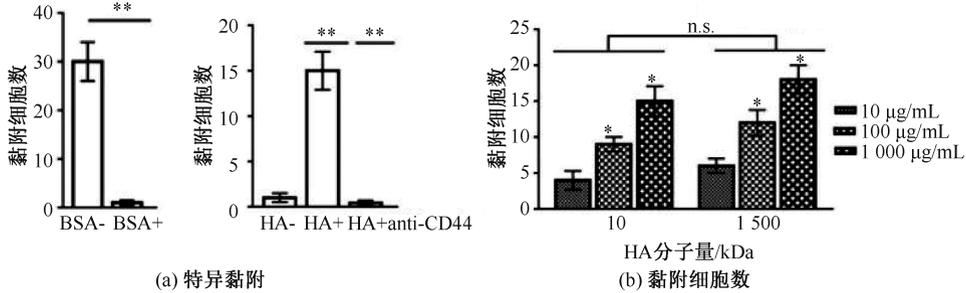


图 2 HA 浓度及分子量对 MDA-MB-231 细胞黏附的影响  
 Fig. 2 Effects of HA concentration and molecular weight on adhesion of MDA-MB-231 cells  
 (a) Specific cell adhesion, (b) Number of adhesive cells

注:与同分子量 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  HA 组比较, \*\* $P \leq 0.01$ , \* $P \leq 0.05$ , n. s.,  $P > 0.05$ 。

### 2.3 生物素-亲和素固定 HA 可促进 MDA-MB-231 细胞的黏附

研究表明,蛋白分子的包被方式决定分子的附着状态和朝向,影响分子的功能及黏附细胞的能力<sup>[18]</sup>。但 HA 是由 D-葡萄糖醛酸及 N-乙酰葡萄糖胺组成的线性二糖聚合物,聚糖分子的包被方式是否也会影响其黏附细胞的能力,至今尚不清晰。以物理吸附与生物素-亲和素的方法在底板固定分子量为 10 kDa 的 HA,在 30 mPa 剪切力下探究 HA 不同包被方式对 MDA-MB-231 细胞黏附功能的影响。

结果表明,无论物理吸附还是生物素-亲和素固定,HA 浓度均正向调节 MDA-MB-231 细胞的黏附;但同一浓度下生物素-亲和素组的细胞黏附数远高于物理吸附组[见图 3(a)]。为了比较分析 HA 的浓度、包被方式对细胞黏附影响的程度,对数据进行双因素方差分析,发现 HA 浓度及包被方式均显著影响细胞黏附,前者  $F = 212.74 (P < 0.01)$ ,后者  $F = 571.51 (P < 0.01)$ 。

为了进一步分析不同包被方式下细胞黏附行为的差异,将黏附事件分为 3 类(瞬时拴缚、滚动和稳定黏附),测定 3 种事件的比率。结果显示,不同包被方式下细胞的黏附行为存在差异:物理吸附组以稳定黏附为主、滚动次之、瞬时拴缚最少,总黏附

比率极低;生物素-亲和素组则以滚动为主、稳定黏附次之、瞬时拴缚最少,各事件比率均远高于同浓度的物理吸附组[见图 3(b)]。该结果提示,生物素-亲和素固定 HA 可显著提高细胞黏附率,尤其是促进细胞滚动。这可能是因为生物素-亲和素组分子的朝向更均一,利于 CD44 结合位点的暴露,从而促进 HA-CD44 的结合,加速细胞的捕获。此外,随 HA 浓度增加,总黏附比率呈先快速增加后基本持平的趋势,说明 HA 浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时足以捕获随流细胞,并观察到细胞黏附行为的多样性。因此,本文后续实验均以 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  10 kDa HA 通过生物素-亲和素的方法功能化底板。

### 2.4 剪切力对 MDA-MB-231 细胞滚动黏附的影响

尽管已探明 HA 的分子量、包被方式和浓度对 MDA-MB-231 细胞黏附的影响,但流体剪切力对 HA-CD44 介导细胞滚动黏附的调控仍未清楚。研究发现,CTCs 大多黏附在血流缓慢的后毛细血管壁<sup>[3]</sup>。因此,本文选用 30、50 mPa 两种剪切力观察细胞的黏附行为。结果表明,相比于 30 mPa 组,50 mPa 组 3 种黏附比率均有所下降[见图 4(a)]:瞬时拴缚事件下降约 30% ( $P > 0.05$ );滚动事件减少约 40% ( $P < 0.05$ ),稳定黏附事件降低约 80%

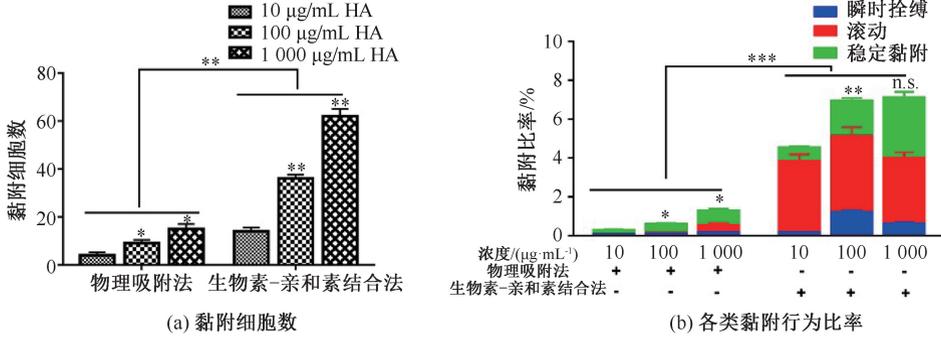


图3 HA包被方式对MDA-MB-231细胞黏附的影响

Fig. 3 Effects of HA immobilized method on adhesion of MDA-MB-231 cells (a) Number of adhesive cells, (b) Ratio of various adhesion behaviors

注:与同组10 µg/mL HA比较, \*\* $P \leq 0.01$ , \* $P \leq 0.05$ , n. s.,  $P > 0.05$ 。

( $P < 0.05$ )。该结果表明,剪切力的增加会削弱细胞的黏附,尤其是稳定黏附。本文推测,剪切力增至50 mPa时,细胞承受了更大的冲刷力,CD44-HA的键力不足以抵抗,导致稳定黏附比率显著减少。

接着,对瞬时栓缚细胞平均栓缚时间及滚动细胞平均滚动速度进行分析。当剪切力从30 mPa增至50 mPa时,细胞平均栓缚时间从0.10 s减至0.09 s ( $P > 0.05$ ),而平均滚动速度则从13 µm/s

增加到16 µm/s ( $P < 0.05$ ) [见图4(b)、(c)]。根据一般认定,细胞的瞬时栓缚是单键行为,栓缚时间长意味着键的解离速率低<sup>[20]</sup>;而滚动速度是双键行为,由go-stop两个环节决定,go反映新前键的形成速度(即结合速率 $k_{on}$ ),stop反映后键的解离速率 $k_{off}$ <sup>[21]</sup>。本文结果表明,30~50 mPa范围内,剪切力对细胞滚动速度的调控可能源于对CD44-HA之 $k_{on}$ 的影响,而非对其 $k_{off}$ 的影响。

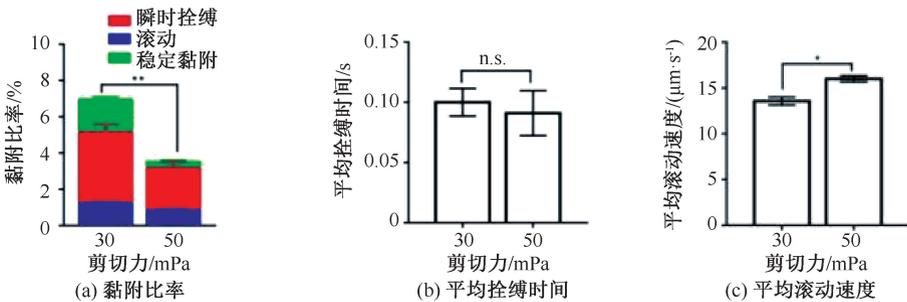


图4 MDA-MB-231细胞的黏附行为

Fig. 4 Adhesion behavior of MDA-MB-231 cells (a) Adhesion ratios, (b) Average tether lifetime, (c) Average rolling velocity

注: \*\* $P \leq 0.01$ , \* $P \leq 0.05$ ; n. s.,  $P > 0.05$ 。下同。

## 2.5 CD44-HA介导的MDA-MB-231细胞和HL60细胞滚动黏附行为的差异

白血病细胞浸润、阻塞肺部小血管导致的肺栓塞是白血病患者常见的致死率很高的急性并发症<sup>[22-23]</sup>,本文探索CD44-HA如何介导白血病HL60细胞的滚动黏附,并与MDA-MB-231细胞比较,实验在30 mPa流场下进行。

结果表明,两种细胞均表现为滚动比率远高于瞬时栓缚和稳定黏附的比率,分别占其总黏附数的57%、66%,说明CD44-HA主要介导两种细胞的滚动而非稳定黏附。但是,MDA-MB-231细胞的栓缚比率是HL60细胞的2倍,滚动比率是HL60细胞的4倍,稳定黏附比率是HL60细胞的24倍。该结果说明,相比HL60细胞,同样流场下MDA-MB-231细

胞更容易被固定的 HA 捕获且与底板的结合能力更强[见图 5(a)]。

对事件数最多的滚动细胞速度进行统计分析,发现 HL60 细胞的平均滚动速度为  $22 \mu\text{m/s}$ ,高于 MDA-MB-231 细胞滚动速度 ( $13 \mu\text{m/s}$ ) [见图 5(b)]。这种差异可能源于 MDA-MB-231 细胞上 CD44 的密度高于 HL60 细胞;或者源于其更大的直径,在同样流场中受到的剪切力更大,导致 MDA-MB-231 细胞与底板的接触面积更大,故与固定的 HA 具有更高的结合速率和黏附率。是否还可能存在两种细胞上 CD44-HA 之  $k_{\text{off}}$  的差异,尚有待进一步的探明。

为验证两种细胞 CD44-HA 之  $k_{\text{off}}$  的差异,本文对至少 50 个细胞的栓缚时间进行测量,其频数分

布如图 5(c) 所示。MDA-MB-231 细胞的平均栓缚时间为  $0.12 \text{ s}$ ,HL60 细胞为  $0.07 \text{ s}$ ,两者差异具有统计学意义。由单键介导的细胞瞬时栓缚中,细胞解离服从一级解离动力学模型,故栓缚时间与对应细胞数的对数 ( $\ln(C)$ ) 呈线性关系,其斜率为分子键的  $k_{\text{off}}$  [20]。结果表明,HL60 细胞的  $k_{\text{off}}$  为  $14.1 \text{ s}^{-1}$ ,比 MDA-MB-231 细胞增加了  $4.8 \text{ s}^{-1}$  [见图 5(d)],证明同样流场下黏附的 HL60 细胞上的 CD44 更容易与 HA 解离。由于分子键的  $k_{\text{off}}$  受外部力学信号调控,MDA-MB-231 细胞的直径大于 HL60 细胞,同流场下作用于 MDA-MB-231 细胞上的剪切力大于 HL60 细胞上的剪切力。因此,同流场下两种细胞上  $k_{\text{off}}$  的差异可能是源于其承受的流体剪切力不同。

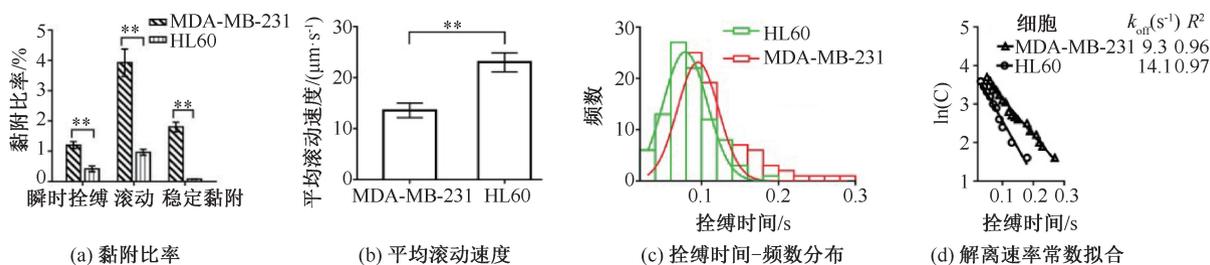


图 5 MDA-MB-231 细胞和 HL60 细胞的滚动黏附

Fig. 5 Rolling adhesion of MDA-MB-231 cells and HL60 cells (a) Adhesion ratios, (b) Average rolling velocity, (c) Tether lifetime-frequency distributions, (d) Fitting of dissociation rate constant

### 3 讨论

CD44-HA 介导肿瘤细胞的滚动黏附,在肿瘤发展的病理过程中发挥关键作用<sup>[24-25]</sup>,一级结构简单的 HA 通过浓度和分子量的变化以复杂的方式调控与 CD44 结合亲和力及下游的信号<sup>[5,7]</sup>。由于实验条件与检测手段不同,文献报道的结果也有不同。Shoshy 等<sup>[26]</sup>采用表面等离子共振技术发现,随 HA 分子量增加,CD44-HA 亲和力呈数量级快速提升;Amorim 等<sup>[3]</sup>在盖玻片上以共价结合方式堆积 HA 形成不同硬度的三维基质,静息状态下发现 HA 分子量仅对胃癌细胞的黏附呈弱正向调节;Jiang 等<sup>[9]</sup>通过石英晶体微天平技术发现,HA 分子量从  $5 \text{ kDa}$  增至  $1000 \text{ kDa}$  时,结合 CD44 的能力呈先快速上升、后趋缓慢甚至下降的趋势。研究发现,HA 分子量与弹性模量及其构成的三维基质的粗糙度相关,而生物分子的二维与三维反应动力学也差异极

大<sup>[2,9,26-27]</sup>。本文采用流动腔系统模拟血流环境,观察分析随流肿瘤细胞在 HA 底板上的黏附,系统研究 HA 的浓度、分子量和包被方式对细胞滚动黏附特征参数的影响。本文发现, $10 \sim 1000 \mu\text{g/mL}$  浓度范围内细胞黏附数与 HA 浓度呈正相关,尽管细胞或分子体系不同,该结果与文献<sup>[28-29]</sup>的结论类似;同样浓度和分子量的 HA,采用生物素-亲和素固定方式更利于细胞黏附,说明包被方式确实也如控制蛋白分子那样通过控制聚糖分子的状态和朝向影响其二维分子间的相互作用<sup>[18,28]</sup>。并且,本文发现,同质量浓度 HA 物理吸附于聚苯乙烯板上,分子量对 MDA-MB-231 细胞黏附的影响甚微,无统计学意义,即分子量不调控细胞黏附。在底板硬度、表面处理、流场及 HA 质量浓度等一致的情况下,同溶液体积中 HA 分子量越大,分子个数越少,总体结合 CD44 的功能位点密度理论上一致,故本文的结论合理可信。

流体剪切力可调控细胞的黏附,但是与白细胞、血小板不同<sup>[19,22,30]</sup>,本文暂未发现随剪切力增加分子键维持更加持久的逆锁键现象,且剪切力升至 100 mPa 后未观察到细胞黏附。在低剪切力 (<50 mPa) 环境下,本文实验结果也如 Clark 等<sup>[15]</sup>和 Richter 等<sup>[25]</sup>所报道的:HA 仅介导细胞的不稳定黏附和滚动,稳定黏附可能需要整合素的参与。通过对细胞滚动黏附的细节分析,发现剪切力增加导致 MDA-MB-231 细胞滚动速度的加快,可能源于 CD44-HA 的  $k_{on}$  降低,而非  $k_{off}$  的影响。

尽管 MDA-MB-231 细胞与 HL60 细胞均为 CD44<sup>+</sup> 细胞<sup>[2]</sup>,且表达为相同的亚型——CD44 标准型,但相同实验条件下,两者滚动黏附的差异很大,后者表现为极低的黏附比率 (<2%) 和较高的滚动速度。相比 MDA-MB-231 细胞,本研究显示,HL60 细胞尺寸小、CD44 分子表达密度低、与 HA 的  $k_{off}$  高,提示正常血流环境中 CD44-HA 的相互作用不足以捕获随流的 HL60 细胞。目前公认的白细胞黏附范式是选择素介导细胞初始黏附,进而激活膜受体整合素,滚动速度减慢,最终停留在炎症部位的血管壁<sup>[23]</sup>。与本实验室前期工作比较,相同流场下 HL60 细胞在 P/E-选择素上的栓缚时间分别约为 0.80、0.35 s<sup>[20,23]</sup>,远大于在 HA 上的 0.07 s,表明 CD44-HA 仅参与 HL60 细胞的滚动黏附,而在介导 MDA-MB-231 细胞的初始黏附中扮演重要角色。

## 4 结论

肿瘤转移是一个复杂的病理过程,涉及微环境、细胞、分子之间的相互作用。本研究聚焦 CTCs 在流场中的初始黏附,探讨 CD44-HA 介导肿瘤细胞黏附的机制,为深入理解 CTCs 的转移和定植、免疫逃逸等过程提供有益启发。

## 参考文献:

[1] 孙玉川,李红,罗庆,等. 肿瘤组织力学异质性与肿瘤细胞的上皮-间质转化[J]. 医用生物力学, 2021, 36(4): 658-663.  
SUN YC, LI H, LUO Q, *et al.* Mechanical heterogeneity of tumor tissues and epithelial-mesenchymal transition of tumor cells [J]. J Med Biomech, 2021, 36(4): 658-663.

[2] CHEN C, ZHAO S, ANAND K, *et al.* The biology and role of CD44 in cancer progression: Therapeutic implications

[J]. J Hematol Oncol, 2018, 11(1): 64.

[3] AMORIM S, COSTA D, RUI LR, *et al.* Molecular weight of surface immobilized hyaluronic acid influences CD44-mediated binding of gastric cancer cells [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 16058.

[4] DONATELLO S, BABINA IS, HAZELWOOD LD, *et al.* Lipid raft association restricts CD44-Ezrin interaction and promotion of breast cancer cell migration [J]. Am J Pathol, 2012, 181(6): 2172-2187.

[5] SONG J, IM J, NHO RS, *et al.* Hyaluronan-CD44 / RHAMM interaction-dependent cell proliferation and survival in lung cancer cells [J]. Mol Carcinog, 2019, 58(3): 321-333.

[6] ROY R, MANDAL S, CHAKRABARTI J, *et al.* Down regulation of hyaluronic acid-CD44 signaling pathway in cervical cancer cell by natural polyphenols plumbagin, pongapin and karanjin [J]. Mol Cell Biochem, 2021, 476(10): 3701-3709.

[7] ZHAO Y, QIAO S, HOU X, *et al.* Bioengineered tumor microenvironments with naked mole rats high-molecular-weight hyaluronan induces apoptosis in breast cancer cells [J]. Oncogene, 2019, 38(22): 4297-4309.

[8] ZOLLER M. CD44: Can a cancer-initiating cell profit from an abundantly expressed molecule? [J]. Nat Rev Cancer, 2011, 11(4): 254-267.

[9] JIANG L, LIU G, LIU H, *et al.* Molecular weight impact on the mechanical forces between hyaluronan and its receptor [J]. Carbohydr Polym, 2018, 197: 326-336.

[10] YAGO T, SHAO B, MINER JJ, *et al.* E-selectin engages PSGL-1 and CD44 through a common signaling pathway to induce integrin  $\alpha_L\beta_2$ -mediated slow leukocyte rolling [J]. Blood, 2010, 116(3): 485-494.

[11] ZARBOCK A, LEY K, MCEVER PR., *et al.* Leukocyte ligands for endothelial selectins: Specialized glycoconjugates that mediate rolling and signaling under flow [J]. Blood, 2011, 118(26): 6743-6751.

[12] OGINO S, NISHIDA N, UMEMOTO R, *et al.* Two-state conformations in the hyaluronan-binding domain regulate CD44 adhesiveness under flow condition [J]. Structure, 2010, 18(5): 649-656.

[13] SHIMADA I, MIHO S, SHINJI O, *et al.* Mechanical force effect on the two-state equilibrium of the hyaluronan-binding domain of CD44 in cell rolling [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(22): 6991-6996.

[14] CHRISTOPHIS C, TAUBERT I, MESECK GR, *et al.* Shear stress regulates adhesion and rolling of CD44<sup>+</sup> leukemic and hematopoietic progenitor cells on hyaluronan [J]. Biophys J, 2011, 101(3): 585-593.

[15] CLARK RA, RONEN A, TIMOTHY AS. CD44 and

- hyaluronan-dependent rolling interactions of lymphocytes on tonsillar stroma [J]. *J Cell Biol*, 1996, 134(4): 1075-1087.
- [16] ALI AJ, ABUELELA AF, MERZABAN JS. An analysis of trafficking receptors shows that CD44 and P-selectin glycoprotein ligand-1 collectively control the migration of activated human T-cells [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 492.
- [17] ABUSAMRA DB, ALEISA FA, AL-AMOODI AS, *et al.* Not just a marker: CD34 on human hematopoietic stem/progenitor cells dominates vascular selectin binding along with CD44 [J]. *Blood Adv*, 2017, 1(27): 2799-2816.
- [18] 陈用, 任建芳, 吴建华, 等. 材料界面对纤维蛋白朝向和功能的影响[J]. *生物医学工程学杂志*, 2021, 38(6): 1087-1096.
- [19] 杨小芳, 丁孝茹, 吴建华, 等. vWF-A1A2A3 介导循环血小板翻滚运动的机制研究[J]. *医用生物力学*, 2013, 28(5): 567-573.
- YANG XF, DING XR, WU JH, *et al.* vWF-A1A2A3-mediated rolling of circulating platelets in flows [J]. *J Med Biomech*, 2013, 28(5): 567-573.
- [20] LI Q, WAYMAN A, LIN J, *et al.* Flow-enhanced stability of rolling adhesion through E-selectin [J]. *Biophys J*, 2016, 111(4): 686-699.
- [21] YAGO T, WU J, WEY CD, *et al.* Catch bonds govern adhesion through L-selectin at threshold shear [J]. *J Cell Biol*, 2004, 166(6): 913-923.
- [22] 陈岱琳, 吴建华, 方颖. 流体剪切力作用下趋化因子 CXCL12 诱导的白细胞整合素 LFA-1 的激活[J]. *医用生物力学*, 2017, 32(6): 548-544.
- CHEN DL, WU JH, FANG Y. Shear force-induced activation of integrin LFA-1 by chemokine CXCL12 under flows [J]. *J Med Biomech*, 2017, 32(6): 548-544.
- [23] LING Y, FANG Y, YANG X, *et al.* Regulation of shear stress on rolling behaviors of HL-60 cells on P-selectin [J]. *Sci China Phys Mech Astron*, 2014, 57(10): 1998-2006.
- [24] 张颖, 王钰岚, 王楷群, 等. 基质刚度调节细胞-细胞外基质间黏附对肿瘤细胞迁移影响的模型研究[J]. *医用生物力学*, 2021, 36(4): 604-611.
- ZHANG Y, WANG YL, WANG KQ, *et al.* Influences of cell-ECM adhesion on migration of tumor cells regulated by ECM stiffness: A model study [J]. *J Med Biomech*, 2021, 36(4): 604-611.
- [25] RICHTER U, WICKLEIN D, GELEFF S, *et al.* The interaction between CD44 on tumour cells and hyaluronan under physiologic flow conditions: Implications for metastasis formation [J]. *Histochem Cell Biol*, 2012, 137(5): 687-695.
- [26] SHOSHY M, SABINA RR, MARTIN H, *et al.* Hyaluronan-coated nanoparticles: The influence of the molecular weight on CD44-hyaluronan interactions and on the immune response [J]. *J Control Release*, 2011, 156(2): 231-238.
- [27] JIRANUWAT S, FRANZISKA U, STEVE M, *et al.* Molecular weight specific impact of soluble and immobilized hyaluronan on CD44 expressing melanoma cells in 3D collagen matrices [J]. *Acta Biomater*, 2017, 50: 259-270.
- [28] MCEVER RP, ZHU C. Rolling cell adhesion [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2010, 26: 363-396.
- [29] MEHDI K, SHINJI S, MASAHIITO T, *et al.* Impact of immobilizing of low molecular weight hyaluronic acid within gelatin-based hydrogel through enzymatic reaction on behavior of enclosed endothelial cells [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 97: 308-316.
- [30] CHEN Y, AMOLD JU L, ZHOU F, *et al.* An integrin  $\alpha_{11b}\beta_3$  intermediate affinity state mediates biomechanical platelet aggregation [J]. *Nat Mater*, 2019, 18(7): 760-769.