

细胞力学特性对电刺激的响应研究进展

孙伟皓¹, 马建立¹, 刘海龙², 吴承伟¹, 张伟^{1*}, Kamonpan Pengpat³

1. 大连理工大学工程力学系, 工业装备结构分析国家重点实验室, 大连 116024

2. 大连理工大学生物医学工程学院, 大连 116024

3. 清迈大学理学院物理与材料科学系, 泰国清迈 50202

摘要 近40年,探索电刺激在生物学中的应用引起了人们极大的兴趣,这种兴趣很大程度上来自于电刺激细胞实验研究方面取得的进展,其结果对研发疾病诊疗新技术具有参考意义。从直流电场、正弦电场、脉冲电场3个方面回顾电刺激细胞的实验设备,综述了电刺激对细胞弹性模量、细胞间应力、细胞黏附力、细胞膜系索力等力学特性的影响规律与生物学机理,以及电刺激在诱导细胞分化,凋亡,改变细胞迁移方向等方面的应用。总结了电刺激-细胞力学特性-细胞生物行为关联性研究的进展。直流电场可引导细胞迁移和排列;正弦电场可导致细胞膜和骨架的分离;脉冲电场可破坏细胞膜、细胞骨架、核膜、染色体端粒的结构,使细胞变形。探讨了目前细胞电刺激研究存在的问题,并对未来发展方向提出了建议。

关键词 电刺激;细胞;生物力学;疾病诊疗

最早关于生物电的书面记录是在公元前4000年的埃及象形文字中发现的,这些象形文字描述了渔民捕鲶鱼时被电击的情形^[1-2]。但直到18世纪末,生物电才第一次被意大利人Galvani在青蛙肌肉里观察到并提出,这极大地激发了人们深入研究的兴趣。探索生物体中的电信号,进而利用电刺激调控生物体的生理功能,以用于疾病的诊断和治

疗。1840年之后,法国、德国和英国在对生物体进行电刺激的实验探索方面获得了蓬勃的发展^[1]。1872年,美国的Thomas Green通过使用手持电极输出300 V电压对患者颈部和左下胸部施加间歇性电刺激,救活了7名因氯仿麻醉导致心脏骤停的5名病人,从而开创了电压刺激在临床医学中应用的先河^[3]。1952年,美国的Zoll搭建了2 ms、150 V

收稿日期:2019-11-15;修回日期:2020-05-11

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFA0704103,2018YFA0704104),辽宁省自然科学基金项目(2019-KF-02-01),中央高校基本科研业务费项目(DUT18ZD302)

作者简介:孙伟皓,硕士研究生,研究方向为电刺激对细胞力学性能的调控机理与应用,电子信箱:17865191886@163.com;张伟(通信作者),教授,博士生导师,研究方向为磁感应热疗恶性肿瘤技术和生物医用水凝胶研发,电子信箱:wei.zhang@dlut.edu.cn

引用格式:孙伟皓,马建立,刘海龙,等.细胞力学特性对电刺激的响应研究进展[J].科技导报,2020,38(22):114-122;doi:10.3981/j.issn.1000-7857.2020.22.013

的脉冲电刺激器,用于房室传导阻滞患者的闭合性胸腔室起搏^[3-4]。随后,植入式起搏器开始商业化,并获得了广泛的临床应用。这激发了人们探索电刺激对细胞众多生物效应与相应机制的兴趣。然而由于电极对培养物的污染、电极诱发氧化还原反应以及产热等问题,电刺激细胞的实验进展缓慢。1977年,Jaffe和Nuccitelli总结了电场对植物和动物细胞电刺激的设备,以及生物电刺激现象、生物学机制和应用等^[5],自此后,电场对细胞电刺激的实验研究进入快速发展阶段。

目前,电场对细胞的作用已经被证明可以诱导多种细胞和分子反应,包括微丝重组、细胞表面受体再分布、细胞内钙动力学变化、细胞趋电性迁移定向、神经元生长锥引导、增强干细胞分化和血管生成^[6]。电疗法已成功地应用于临床骨折治疗、神经纤维修复、软组织再生和癌症治疗^[7]。但是大部分电刺激细胞的实验都只关注电刺激对细胞行为的影响,鲜有谈论电学刺激-细胞力学特性-细胞生物行为的映射与调控关系。细胞力学特性对细胞的生物行为有重要的调控作用,了解电刺激对细胞力学特性的影响有助于揭示电刺激影响细胞生物行为的机理。

1 细胞力学特性对细胞生物行为的影响

细胞力学特性的研究内容包括细胞在力学载荷作用下细胞膜、细胞骨架的变形、弹性常数(弹性模量、泊松比等)、黏弹性、黏附力等力学性能的改变,以及力学因素对细胞生长发育、成熟、增殖、衰老和死亡等的影响及其机制。基于此,将细胞力学特性对细胞生物功能的影响分为2类:细胞力学性能改变和细胞所处力学环境改变对细胞生物行为的影响。

细胞的力学性能如膜张力、骨架弹性、黏附强度和黏弹性等与细胞的分化、稳态、衰老、病变、迁移等多种生物学功能密切相关^[6]。例如,较低的膜张力能更好地促进人骨髓间充质干细胞内吞、外排,并有助于提高这些细胞对各种可溶性生化环境

刺激(如诱导因子的敏感性),从而促进或抑制干细胞诱导分化为特定的细胞类型^[7-9]。强的膜-细胞骨架黏附有利于成骨细胞在连续的应力循环下保持结构的完整性^[7]。细胞骨架的弹性模量降低有助于介导人骨髓间充质干细胞(hMSC)的脂肪分化^[9-10]。红细胞较低的黏弹性和较差的变形能力预示着细胞的衰老和病变,可以根据红细胞的黏弹性和变形能力区分病变衰老的细胞和健康年轻的红细胞^[6,11]。

另一方面,研究表明细胞所处的力学环境如基质刚度、细胞-细胞接触和变形、特定类型的机械刺激和微重力条件等在控制和改变细胞基因表达和分化途径、促进细胞成熟等方面发挥重要作用^[7,9,12-14]。例如,较硬的细胞外基质刚度诱导干细胞分化成较硬的成骨细胞而不是弹性模量较小的神经细胞^[9,15]。微重力条件诱导干细胞的成脂分化增加,成骨分化减少^[14]。静态拉伸促进人类多功能干细胞来源的心脏组织成熟^[16]。循环应变诱导犬气管肌细胞(canine trachealis muscle)的骨架重组^[17]。细胞力学特性对细胞生物学功能影响的研究,充分展示出力学因素的重要影响,这也使得研究电刺激对细胞力学特性的影响更具有吸引力,因为其中蕴含着巨大的理论研究和临床应用价值。

2 电刺激对细胞力学特性的影响

根据对细胞作用电场的区别,从直流电场、正弦电场、冲电场3个方面介绍电刺激细胞需要使用的设备和电刺激对细胞力学特性的影响。

2.1 直流电场

直流电场指的是电流方向不变的电场。大多数情况下研究的电场是直流电场的一种特殊情况——恒流电场,即电流大小和方向都不变的电场(以下不做特殊说明时,直流电场均指恒流电场)。细胞浸没在细胞培养液或者PBS(phosphate buffer saline)缓冲液中,通过使用直流电的装置给细胞提供稳定的直流电刺激。电极通过琼脂盐桥传递电流而对细胞施加电刺激^[7,18-19],不直接与细胞培养液和细胞接触,以降低焦耳热的产生^[20],减少不必

要的电极副产物,避免了pH值的大幅振荡^[7](图1^[21])。然而这种盐桥结构的设置,给临床应用的直流电刺激设备带了了巨大的挑战。如BioMet系统,使用的是金属电极而没有盐桥,因此在体内和体外实验中获得的结果很难直接相互关联^[22]。从产热角度看,当金属电极和细胞培养液直接相连时,毫安级别的电流引起的焦耳热可以忽略。为了减少金属电极产生的电极有害产物,可使用高纯度、化学惰性的金属电极。因此,使用高纯度铂做电极,直接与细胞培养液接触,避免使用盐桥结构成为一种普遍采用的方法^[23]。相对于持续提供稳定直流电场的情况,如果在电路中设置一个开关,控制向细胞间歇性通电的时间,就可以将直流电场整合成类似于脉冲电场的形式^[24]。这样的电场单次作用时间和电场强度都与直流电场相似,可以看作是直流电场的累加。

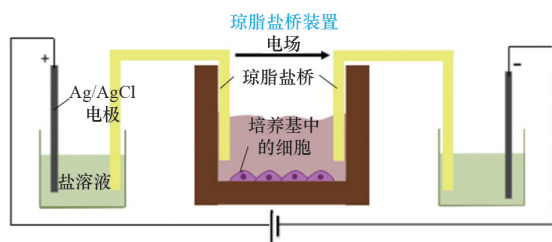


图1 向细胞提供直流电刺激的装置

直流电场对细胞的作用包括损伤细胞局灶性粘连和细胞骨架^[7,24],调控细胞迁移和排列的方向^[18-19,25-26],改变细胞的形状^[19,26]。Jaatinen等^[24]通过对小鼠肌细胞连续多次施加单次持续时间5 s的直流电诱导细胞骨架和局灶性粘连的损伤从而导致细胞黏附力减小。Titushkin等^[7]的实验表明直流电场破坏hMSC细胞骨架,导致细胞弹性模量下降以及细胞膜和骨架的分离。利用直流电场对hMSC细胞弹性模量和细胞骨架的改变,可以诱导hMSC细胞分化成弹性模量更小的细胞。Sun等^[27]将hMSC细胞每天暴露在0.1 V/cm的直流电场下1 h,刺激10 d,促进其分化成骨细胞。这是由于hMSC细胞中的应力纤维不如成骨细胞中薄的微丝稳定,它们首先在电暴露下被分解。这将使细胞的弹性和结构特性更接近于完全分化的成骨细胞。电致膜

与细胞骨架分离,膜张力随之降低,可增强可溶性成骨因子的内吞作用和跨膜转运。细胞在成骨培养基中恢复后,每一个短期的电暴露将导致进一步重新排列的内酯和埃兹蛋白/根蛋白/膜突蛋白(ezrin/radixin/moesin,ERM)进入成骨型模式。对于细胞弹性模量远远低于hMSC细胞的神经元细胞,就需要更高强度的电刺激来促进hMSC细胞分化^[7]。

直流电场改变细胞迁移以及排列方向的机制和改变细胞形状的机制相似。Cho^[18]等和Curtze等^[19]发现直流电场通过改变多种类型细胞的细胞间作用力,包括牵引力和细胞间应力从而指导细胞迁移和排列方向,改变细胞的形状。局部细胞迁移方向遵循局部最大主应力方向,即细胞沿细胞间最小剪应力方向迁移。换言之,每个细胞都倾向于迁移和重构,以维持最小的局部细胞间剪切应力^[25]。这在直观上是容易理解的。但是当迁移的细胞单层被迫遇到非黏附空腔时,局部速度矢量系统地偏离主应力方向,角度接近90°,这会导致主应力方向和局部速度矢量方向的垂直排列^[28]。细胞的拉长和排列方向改变是相伴发生的,细胞被拉长的方向和排列方向一致,这是由在这个方向上的最大细胞间应力和牵引力导致的。

2.2 正弦电场

正弦电场指的是指波形按正弦规律随时间变化的电场。没有特殊说明的正弦电场都是指正弦交流电场,即电场在一个周期里的运行平均值为零。除了正弦交流电场,正弦电场还有一种特殊情况:正弦直流电场。2种电场的波形类似,最大区别在于正弦直流电场的电流方向不变,即电场保持电位的绝对值大于电场的振幅。向细胞提供正弦电流的装置一般为函数发生器^[6,11,29]。函数发生器具有调制的功能,可以进行调幅、调频、调相、脉宽调制。满足细胞接受不同参数的正弦电场刺激的需求。除了电源外,正弦电场和直流电场的电刺激腔室相同,可以通过盐桥传递电流,也可直接通过金属电极传递电流,对于场强较大的正弦电场刺激细胞实验,为满足大场强的要求,通常需要控制电极之间的间距在几十到几百微米^[6,11],这样的尺寸限制使实验更多地采用金属电极。

正弦电场对细胞的作用包括改变细胞和囊泡形状^[6,29-30],诱导细胞膜和骨架的分离。正弦电场作用导致离子在细胞膜表面积累,引起跨膜电势的改变,诱导细胞的极化,从而对细胞施加一个介电泳力,该介电泳力可以通过对细胞表面麦克斯韦应力的积分得出。介电泳力的作用使细胞形状改变。1 MHz的交流电场通过施加介电泳力从而使NB4细胞(白血病细胞系)从圆形变成椭圆形^[6]。这个介电泳力随着场强的增大而增大,所以变形和场强正相关。正弦电场还可以使与细胞膜组成和结构相似的囊泡产生变形^[29-30]。因为囊泡和细胞膜的相似性,所以囊泡可以模拟细胞膜的生物行为,对囊泡的研究可以加深人们对生物膜的认识。Kummrow等^[31]发现正弦交流电场使球形囊泡在电场方向上变形为长椭球体,变形程度随外加电场强度的增大而增大。膜张力的改变直接导致囊泡形状的改变。在电场作用下囊泡膜张力的改变可以通过计算麦克斯韦应力得出^[32]。

细胞膜和细胞骨架的分离程度可以通过测量从细胞膜中拉出一定长度的膜系绳需要施加的系绳力(membrane tether force)来表征^[7,32-33],力越小分离程度越明显。膜系绳(membrane tether)是用光学捕获珠将细胞膜从细胞骨架中分离出来而形成的长而薄的圆柱体。在保持电位不变的直流电场作用下拉出一定长度的膜系绳的系绳力是稳定的。Brownell等^[34]实验表明在正弦直流电场的作用下,系绳力也呈现出正弦函数的形式,且系绳力变化的频率与正弦直流电场的频率相同,电场频率和保持电位的增加会导致系绳力的减小。因此相较于低频率低保持电位的直流电场,高频率高保持电位的直流电场对细胞膜和细胞骨架的分离有更明显的效果。除了正弦电场中细胞的系绳力和电场呈现出相同的函数变化,细胞在矩形交流电场中系绳力的变化也有类似的现象^[35]。Qian等^[35]研究表明在矩形交流电场下,细胞的系绳力也呈现出同样的函数形式。其他波形的电场系绳力是否还能与电场的函数形式保持一致性有待进一步的实验论证。

2.3 脉冲电场

脉冲电场相较于直流电场和正弦电场有高场

强和短脉冲宽度的特点。其中脉宽为纳秒级,场强在10~100 kV/cm的高压纳秒脉冲电场由于脉冲宽度低于细胞膜的充电时间常数可透过细胞膜的屏蔽作用,使电场作用延伸到细胞内^[36]。因此,脉冲电场尤其是纳秒级脉冲电场在杀菌^[37-39]和生物学领域得到广泛的应用。提供高强度脉冲电场的装置一般为基于Blumlein线原理的脉冲发生器^[40-42],这样的发生器可以提供高功率低能量的脉冲。一种典型的对细胞施加脉冲电场的装置如图2^[42]所示,电极不直接与细胞溶液接触,而是将装着细胞溶液的容器放在2个电极之间接收脉冲刺激,所以不存在电极副产物问题。因为纳秒级脉冲电场低能量的特点,电场产生的焦耳热微乎其微。

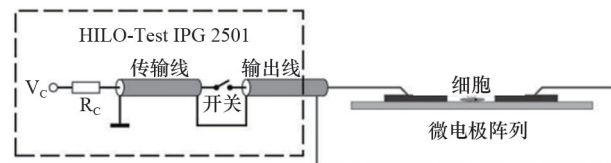


图2 向细胞提供脉冲电场刺激的装置^[42]

脉冲电场对细胞的作用包括在细胞膜形成孔隙^[42-45],对细胞骨架、核膜、染色体端粒的破坏^[42-43,46-49],使细胞变形^[30,43,50],诱导细胞凋亡^[44-45,51-53]。低强度的脉冲电流还显示出诱导细胞分化的潜力^[54]。Timoshkin等^[55]从力的角度解释了脉冲电场在细胞膜表面形成孔隙的原因。脉冲电场加大了细胞的跨膜电压,在细胞膜上产生较大的麦克斯韦应力,该应力与细胞膜的抗拉强度相当,进而在膜表面形成孔隙。电场对细胞骨架和核膜的破坏,以及导致细胞膜上孔隙的形成直接导致了细胞弹性模量的下降。Dutta等^[43]通过实验表明单次强度较高的纳秒级脉冲电场(60 kV/cm, 60 ns)使Jurkat细胞弹性模量损失80%以上,这是由于纳秒级脉冲电场(nsPEF)破坏细胞骨架引起的,而较低强度的纳秒级脉冲电场(15 kV/cm, 60 ns)使细胞弹性模量损失较少,这是由于电场作用在细胞膜上形成了孔隙。Louise等^[48]研究表明,8次毫秒级脉冲电场(400 V/cm, 5 ms, 1 Hz)使中国仓鼠卵巢细胞(CHO)骨架破坏,导致细胞弹性模量下降。脉

冲电场诱导膜孔隙形成导致的膜通透性增加已被成功地用于将大分子引入活细胞^[56-57]、提取细胞成分^[58-59]或在不加热的情况下灭活微生物^[39,60-61]。

除了一般意义上具有高场强特点的脉冲电场,还有一种脉冲电场有着较低的场强(约 5 V/cm),称之为电起搏。电起搏由特定的电刺激装置提供(C-Pace EP Culture Pacer, IonOptix)^[16],细胞在培养液中直接与电极接触。这样的电刺激可以用来模拟人体内心脏生长的环境,使从人类多功能干细

胞(hPSCs)衍生出的心肌细胞增加肌原纤维的超微结构,提高细胞的被动刚度^[16,62],促进细胞的成熟。这为研发出具有功能的人类心脏组织提供了新的基础。

表 1 列出了电刺激对细胞力学特性的影响。可以发现,直流电场和脉冲电场都对细胞弹性模量有较大影响,直流电场和正弦电场还对细胞膜和骨架相互作用即膜系绳力有较大影响。此外,正弦电场可以激发电场对细胞作用的介电泳力。

表 1 电场刺激影响细胞力学特性的影响

电场类型	电场参数	细胞类型	实验结果	文献
直流电场(DCEF)	2 V/cm, 60 min	人骨髓间充质干细胞(hMSCs)	降低细胞的弹性模量,分离细胞膜和细胞骨架	[7]
直流电场(DCEF)	0.5 V/cm, 100 min	人类角质细胞(HaCaT)	改变局部细胞间牵引力和细胞间应力,改变细胞迁移和排列方向	[18]
直流电场(DCEF)	10 V/cm, 10~30 s	原代牛成骨细胞和人骨肉瘤细胞	改变局部细胞间牵引力、细胞形状和细胞排列方向	[19]
直流脉冲电场	电流密度 0.01 A/m ² , 作用 5 s, 间隔 5 s, 电流剂量 0~20 As/m ²	小鼠成肌细胞 C2C12	减小细胞的黏附力	[24]
正弦直流电场	保持电位 -60 mV, 振幅 20 mV, 频率 1 Hz	人胚肾细胞(HEK)和外毛细胞(OHCs)	膜系索力呈正弦函数变化	[34]
交流电场(ACEF)	75~200 kV/m, 1 MHz, 30 min	白血病 NB4 细胞	介电泳力(DEP)使细胞变形,介电泳力随电场强度的增大而增大	[6]
交流电场(ACEF)	1~5 kV/m, 100 Hz, 30~40 min	脂质和二嵌段共聚物的巨大囊泡(PBd-b-PEO)	提高囊泡的抗弯刚度,降低囊泡的膜张力	[29]
纳秒级脉冲电场(nsPEF)	60 kV/cm 和 15 kV/cm, 60 ns, 1 次, 方波	Jurkat 细胞	降低细胞的弹性模量	[43]
纳秒级脉冲电场(nsPEF)	150 kV/cm, 10 ns, 1 Hz, 100 次, 方波	中国仓鼠卵巢(CHO)细胞	降低细胞的弹性模量	[46]
脉冲电场(PEF)	400 V/cm, 5 ms, 1 Hz, 8 次, 方波	中国仓鼠卵巢(CHO)细胞	降低细胞的弹性模量	[48],[49]
脉冲电场(PEF)	7.5 kV/cm, 5 μs, 1 kHz, 1000 次, 方波	营养细菌(vegetative bacteria)	降低细胞的弹性模量和黏附力	[39]
低强度脉冲电场	5 V/cm, 5 ms, 2 Hz 作用 1 周	多能干细胞来源的人类心脏组织	增加细胞的被动刚度	[16]

3 结论

目前,直流电场、正弦电场和脉冲电场改变细

胞生物行为方面的研究日新月异。研究表明,直流电场可刺激细胞分化,引导细胞迁移和排列^[22,63-65];正弦电场可改变细胞形状,导致细胞膜和骨架的分

离;脉冲电场可破坏细胞膜、细胞骨架、核膜、染色体端粒的结构,使细胞变形。但是大多数研究都是从生物学的机理解释,没有从细胞力学特性的角度出发,本文总结了用细胞力学特性的改变解释电刺激改变细胞生物行为的研究。尽管一些细胞力学特性对细胞生物行为影响是显而易见的,但是目前对很多生物现象如细胞的分化、迁移和细胞表面微孔的形成等的解释还是存在诸多争议,如何建立电学刺激-细胞力学特性-细胞生物行为的映射关系,仍需生物电磁学、细胞力学、细胞生物学等跨学科融合,更深入、系统的工作仍需开展。

1) 用于刺激细胞的脉冲电场的脉冲形状多为矩形脉冲,尽管矩形脉冲的高效性在研究细胞的电渗作用方面被证明^[66-67],但是在脉冲电场对细胞行为的其他方面的影响(如诱导细胞凋亡、分化)以及脉冲特性(如形状、幅值、持续时间)的影响等仍需深入研究。

2) 因为精准测量细胞间相互作用力存在的困难,目前很多研究只能通过测量单层细胞的细胞间的相互作用力^[18-19]解释细胞迁移和细胞排列,这与细胞真实所处的三维环境有所区别。研发可三维尺度的细胞交互作用力测试装置及相关实验也是需要努力的一个方向。

3) 虽然体外实验取得了进展,但是离临床应用还有一定距离。例如,组织工程通过电刺激进行体外实验诱导细胞的成熟,但是很多细胞组织在力学性能和细胞超微结构方面和人体内具备生理功能的成熟细胞存在一定差距^[16,62]。如何将体外实验结果应用于临床仍是一个艰巨的挑战。

显然,电刺激对细胞力学特性的影响规律,以及如何实现其临床应用还有许多亟待解决的问题。研究电学刺激—细胞力学特性—细胞生物行为的映射关系已经显现出巨大的应用潜力,例如通过降低膜张力提高细胞对外界环境的敏感性增加细胞对药物的吞噬,通过不同程度地降低干细胞的弹性模量诱导干细胞分化成不同类型的细胞组织等。相信,随着跨学科研究的不断深入,电刺激改变细胞力学特性从而改变细胞生物行为的研究有望在未来获得加速发展。

参考文献 (References)

- [1] Polk C. Biological applications of large electric fields: Some history and fundamentals[J]. IEEE Transactions on Plasma Science, 2000, 28(1): 6-14.
- [2] Malmivuo J, Plonsey R. Bioelectromagnetism[M]. Oxford: Oxford University Press, 1995: 2-3.
- [3] Geddes L A. Historical highlights in cardiac pacing[J]. IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine, 1990, 9(2): 12-18.
- [4] Timms D. A review of clinical ventricular assist devices [J]. Medical Engineering and Physics, 2011, 33(9): 1041-1047.
- [5] Jaffe L F, Nuccitelli R. Electrical controls of development [J]. Annual Review of Biophysics and Bioengineering, 1977(6): 445-476.
- [6] Bai G, Li Y, Chu H K, et al. Characterization of biomechanical properties of cells through dielectrophoresis-based cell stretching and actin cytoskeleton modeling[J]. BioMedical Engineering OnLine, 2017, 16(1): 41.
- [7] Titushkin I, Cho M. Regulation of cell cytoskeleton and membrane mechanics by electric field: Role of linker proteins[J]. Biophysical Journal, 2009, 96(2): 717-728.
- [8] Titushkin I A, Cho M R. Controlling cellular biomechanics of human mesenchymal stem cells[C]. Proceedings of the 31st Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society: Engineering the Future of Biomedicine, Piscataway, NJ: IEEE, 2009: 2090-2093.
- [9] Titushkin I, Cho M. Altered osteogenic commitment of human mesenchymal stem cells by ERM protein-dependent modulation of cellular biomechanics[J]. Journal of Biomechanics, 2011, 44(15): 2692-2698.
- [10] McBeath M, Pirone D M, Nelson C M, et al. Cell shape, cytoskeletal tension, and RhoA regulate stem cell lineage commitment[J]. Developmental Cell, 2004, 6(4): 483-495.
- [11] Wong P K, Tan W, Ho C M. Cell relaxation after electrodeformation: Effect of latrunculin A on cytoskeletal actin [J]. Journal of Biomechanics, 2005, 38(3): 529-535.
- [12] Pelling A E, Horton M A. An historical perspective on cell mechanics[J]. Pflugers Archiv- European Journal of Physiology, 2008, 456(1): 3-12.
- [13] Janmey P A, McCulloch C A. Cell Mechanics: Integrating cell responses to mechanical stimuli[J]. Annual Review of Biomedical Engineering, 2007(9): 1-34.

- [14] Meyers V E, Zayzafoon M, Douglas J T, et al. RhoA and cytoskeletal disruption mediate reduced osteoblastogenesis and enhanced adipogenesis of human mesenchymal stem cells in modeled microgravity[J]. *Journal of Bone and Miner research*, 2005, 20(10): 1858–1866.
- [15] Engler A J, Sen S, Sweeney H L, et al. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification[J]. *Cell*, 2006, 126(4): 677–689.
- [16] Ruan J L, Tulloch N L, Razumova M V, et al. Mechanical stress conditioning and electrical stimulation promote contractility and force maturation of induced pluripotent stem cell-derived human cardiac tissue[J]. *Circulation*, 2016, 134(20): 1557–1567.
- [17] Smith P G, Deng L, Fredberg J J, et al. Mechanical strain increases cell stiffness through cytoskeletal filament reorganization[J]. *Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2003, 285(2): 456–463.
- [18] Cho Y, Son M, Jeong M, et al. Electric field-induced migration and intercellular stress alignment in a collective epithelial monolayer[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2018(29): 2243–2357.
- [19] Curtze S, Dembo M, Miron M, et al. Dynamic changes in traction forces with DC electric field in osteoblast-like cells[J]. *Journal of Cell Science*, 2004(117): 2721–2729.
- [20] Steckel R R, Page E H, Geddes L A, et al. Electrical stimulation on skin wound healing in the horse: Preliminary studies[J]. *American Journal of Veterinary Research*, 1984, 45(4): 800–803.
- [21] Thirivikraman G, Boda S K, Basu B. Unraveling the mechanistic effects of electric field stimulation towards directing stem cell fate and function: A tissue engineering perspective[J]. *Biomaterials*, 2018(150): 60–86.
- [22] Mobini S, Lepik L, Barker J H. Direct current electrical stimulation chamber for treating cells in vitro[J]. *Biotechniques*, 2016, 60(2): 95–98.
- [23] Yizraeli M L, Weihs D. Time-dependent micromechanical responses of breast cancer cells and adjacent fibroblasts to electric treatment[J]. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 2011, 61(3): 605–618.
- [24] Jaatinen L, Young E, Hyttinen J. Quantifying the effect of electric current on cell adhesion studied by single-cell force spectroscopy[J]. *Biointerphases*, 2016, 11(4): 1–8.
- [25] Tambe D T, Hardin C C, Angelini T E, et al. Collective cell guidance by cooperative intercellular forces[J]. *Nature Materials*, 2011(10): 469–475.
- [26] Sun S, Titushkin I, Cho M. Regulation of mesenchymal stem cell adhesion and orientation in 3D collagen scaffold by electrical stimulus[J]. *Bioelectrochemistry*, 2006, 69(2): 133–141.
- [27] Sun S, Liu Y, Lipsky S, et al. Physical manipulation of calcium oscillations facilitates osteodifferentiation of human mesenchymal stem cells[J]. *The FASEB Journal*, 2007, 21(7): 1472–1480.
- [28] Kim J H, Serra-Picamal X, Tambe D T, et al. Propulsion and navigation within the advancing monolayer sheet[J]. *Nature Materials*, 2013(12): 856–863.
- [29] Salipante P F, Shapiro M L, Vlahovska P M. Electric field induced deformations of biomimetic fluid membranes[J]. *Procedia Iutam*, 2015(16): 60–69.
- [30] Portet T, Mauroy C, Demery V, et al. Destabilizing giant vesicles with electric fields: An overview of current applications[J]. *The Journal of Membrane Biology*, 2012, 245(9): 555–564.
- [31] Kummrow M, Helfrich W. Deformation of giant lipid vesicles by electric fields[J]. *Physical Review A*, 1991, 44(12): 8356–8361.
- [32] Li Z, Anvari B, Takashima M, et al. Membrane tether formation from outer hair cells with optical tweezers[J]. *Biophysical Journal*, 2002, 82(3): 1386–1395.
- [33] Qian F, Ermilov S, Murdock D, et al. Combining optical tweezers and patch clamp for studies of cell membrane electromechanics[J]. *Review of Scientific Instruments*, 2004, 75(9): 2937–2942.
- [34] Brownell W E, Qian F, Anvari B. Cell membrane tethers generate mechanical force in response to electrical stimulation[J]. *Biophysical Journal*, 2010, 99(3): 845–852.
- [35] Qian F, William E B, Bahman A. Effect of ionic strength on electrically evoked membrane tether force: An optical tweezers study[J]. *Proceedings of SPIE*, 2004(5514): 626–631.
- [36] Beebe S, Sain N, Ren W. Induction of cell death mechanisms and apoptosis by nanosecond pulsed electric fields (nsPEFs)[J]. *Cells*, 2013, 2(1): 136–162.
- [37] 郑超. 低温等离子体和脉冲电场灭菌技术[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [38] 黄康. 高压脉冲电场处理室内多物理场对微生物灭活作用的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [39] Pillet F, Formosa-Dague C, Baaziz H, et al. Cell wall as a target for bacteria inactivation by pulsed electric fields

- [J]. *Science Reports*, 2016, 6(1): 19778–19778.
- [40] Schoenbach K H, Beebe S J, Buescher E S. Intracellular effect of ultrashort electrical pulses[J]. *Bioelectromagnetics*, 2001, 22(6): 440–448.
- [41] Kolb J F, Kono S, Schoenbach K H. Nanosecond pulsed electric field generators for the study of subcellular effects[J]. *Bioelectromagnetics*, 2006, 27(3): 172–187.
- [42] Berghöfer T, Eing C, Flickinger B, et al. Nanosecond electric pulses trigger actin responses in plant cells[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009, 387(3): 590–595.
- [43] Dutta D, Asmar A, Stacey M. Effects of nanosecond pulse electric fields on cellular elasticity[J]. *Micron*, 2015(72): 15–20.
- [44] Hohenberger P, Eing C, Straessner R, et al. Plant actin controls membrane permeability[J]. *Biochimica Biophysica Acta(BBA) – Biomembranes*, 2011, 1808(9): 2304–2312.
- [45] Xiao D, Tang L, Zeng C, et al. Effect of actin cytoskeleton disruption on electric pulse-induced apoptosis and electroporation in tumour cells[J]. *Cell Biology International*, 2011, 35(2): 99–104.
- [46] Thompson G L, Roth C, Tolstikh G, et al. Disruption of the actin cortex contributes to susceptibility of mammalian cells to nanosecond pulsed electric fields[J]. *Bioelectromagnetics*, 2014, 35(4): 262–272.
- [47] Stacey M, Fox P, Buescher S, et al. Nanosecond pulsed electric field induced cytoskeleton, nuclear membrane and telomere damage adversely impact cell survival[J]. *Bioelectrochemistry*, 2011, 82(2): 131–134.
- [48] Louise C, Etienne D, Marie-Pierre R. AFM sensing cortical actin cytoskeleton destabilization during plasma membrane electroporation[J]. *Cytoskeleton*, 2014, 71(10): 587–594.
- [49] Chopinet L, Roudot C, Rols M P, et al. Destabilization induced by electroporation analyzed by atomic force microscopy[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 2013, 1828(9): 2223–2229.
- [50] Chopinet L, Rols M P. Nanosecond electric pulses: A mini-review of the present state of the art[J]. *Bioelectrochemistry*, 2015(103): 2–6.
- [51] Nuccitelli R, Pliquett U, Chen X, et al. Nanosecond pulsed electric fields cause melanomas to self-destruct[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 2006, 343(2): 351–360.
- [52] Nuccitelli R, Chen X, Pakhomov A G, et al. A new pulsed electric field therapy for melanoma disrupts the tumor's blood supply and causes complete remission without recurrence[J]. *International Journal of Cancer*, 2009, 125(2): 438–445.
- [53] 张仁民, 姚陈果, 陈新, 等. ns级陡脉冲诱导肿瘤细胞凋亡的实验研究[J]. *高电压技术*, 2007(2): 106–108.
- [54] 姚青, 宋治远, 马显光. 脉冲微交流电刺激促进体外诱导大鼠骨髓间充质干细胞向心肌分化[J]. *第三军医大学学报*, 2008(5): 410–413.
- [55] Timoshkin I V, MacGregor S J, Fouracre R A, et al. Forces acting on biological cells in external electrical fields[C]. *IEEE Conference on Electrical Insulation and Dielectric Phenomena*. Piscataway, NJ: IEEE, 2006.
- [56] Teissie J, Golzio M, Rols M P. Mechanisms of cell membrane electroporation: A minireview of our present (lack of?) knowledge[J]. *Biochimica et Biophysica Acta(BBA) – General Subjects*, 2005, 1724(3): 270–280.
- [57] Neumann E, Kakorin S, Tøensing K. Fundamentals of electroporation delivery of drugs and genes[J]. *Bioelectrochemistry Bioenerg*, 1999, 48(1): 3–16.
- [58] Sack M, Sigler J, Frenzel S, et al. Research on industrial-scale electroporation devices fostering the extraction of substances from biological tissue[J]. *Food Engineering Reviews*, 2010, 2(2): 147–156.
- [59] Knorr D, Angersbach A, Eshtiaghi M N, et al. Processing concepts based on high intensity electric field pulses[J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2001, 12(3/4): 129–135.
- [60] Gusbeth C, Frey W, Volkmann H, et al. Pulsed electric field treatment for bacteria reduction and its impact on hospital wastewater[J]. *Chemosphere*, 2009, 75(2): 228–233.
- [61] Toepfl S, Heinz V, Knorr D. High intensity pulsed electric fields applied for food preservation[J]. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 2007, 46(6): 537–546.
- [62] Sun X, Nunes S S. Biowire platform for maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes[J]. *Methods*, 2016, 101(15): 21–26.
- [63] Poo M M, Poo W J H, Lam J W. Lateral electrophoresis and diffusion of concanavalin: A receptors in the membrane of embryonic muscle cell[J]. *Journal of Cell Biology*, 1978, doi: 10.1083/jcb.76.2.483.
- [64] Li X, Kolega J. Effects of direct current electric fields

- on cell migration and actin filament distribution in bovine vascular endothelial cells[J]. *Journal of Vascular Research*, 2002(39): 391–404.
- [65] Li Y, Xu T, Chen X, et al. Effects of direct current electric fields on lung cancer cell electrotaxis in a PMMA-based microfluidic device[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2017, 409(8): 2163–2178.
- [66] Kotnik T, Pucihar G, Reberšek M, et al. Role of pulse shape in cell membrane electropermeabilization[J]. *Biochimica et Biophysica Acta(BBA)–Biomembranes*, 2003, 1614(2): 193–200.
- [67] Miklavcic D, Towhidi L. Numerical study of the electroporation pulse shape effect on molecular uptake of biological cells[J]. *Radiology & Oncology*, 2010, 44(1): 34–41.

The mechanical responses of cell to electrical stimulation

SUN Weihao¹, MA Jianli¹, LIU Hailong², WU Chengwei¹, ZHANG Wei^{2*}, PENG PAT Kamonpan³

1. Department of Engineering Mechanics, State Key Laboratory of Structural Analysis for Industrial Equipment, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China
2. Department of Biomedical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China
3. Department of Physics and Materials Science, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50202, Thailand

Abstract In the past 40 years, the electrical stimulation is widely applied in biomedicine, largely due to the progress achieved in the experimental studies of electrical stimulation of cells. The obtained results are valuable for developing novel diagnosis and therapy techniques for diseases. Recent studies focused on the mechanism by which electrical stimulation alters cellular biological behavior, but the interpretation of many of related phenomena is difficult and controversial. We discuss the experimental equipment for electrical stimulation of cells from three aspects: the direct current electric field, the sinusoidal electric field and the pulsed electric field, and the effects of electrical stimulation on the mechanical properties of cells, including the elasticity modulus, the intercellular stress, the cell adhesion and the cell membrane tether force, as well as the corresponding biological mechanism and the application of electrical stimulation in inducing the cell differentiation, the apoptosis and changing the cell migration direction. The correlations among the electrical stimulation, the mechanical characteristics of cells and the biological behavior of cells are analyzed. Finally, we highlight the existing problems in the electrical stimulation of cells and put forward some suggestions for the future development.

Keywords electric stimulation; cell; bio-mechanics; diagnosis and therapy of disease ●



(责任编辑 徐丽娇)