

细胞共培养方法的研究进展

秦燕勤 陈玉龙 李建生

450046 河南郑州, 河南中医学院老年医学研究所(秦燕勤、李建生), 分子生物学实验中心(陈玉龙)

通讯作者: 陈玉龙, Email: cyl72621@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.08.022

【摘要】 细胞培养技术是目前体外实验中最常用的方法。单层细胞培养因不能完全模拟多细胞相互作用的体内环境、细胞趋向单一化, 而无法探讨多细胞间的相互关系, 已不能满足研究者的需求。因此, 为了满足科研需要, 细胞共培养技术应运而生, 其方法也在实践中不断改进: 从直接接触 to 间接接触, 从二维到三维, 细胞共培养模型更接近人体内环境, 更有利于研究细胞与细胞之间的相互作用。目前, 共培养技术已经被很多学者用于体外生理及病理模型、组织工程、细胞分化研究, 为药物研发(包括中药研发)、药物分析以及药物作用机制及部位等研究热点。对有关细胞共培养方法的研究进行综述, 总结各种方法的优点和不足, 以促进细胞培养方法的不断改进, 从而建立更加接近人体的多种细胞共培养体系, 甚至模拟人体内循环的体外模型。

【关键词】 细胞共培养; 直接接触共培养; 间接接触共培养; 三维共培养体系

基金项目: 国家自然科学基金(81130062)

Research progress of cell co-culture method Qin Yanqin, Chen Yulong, Li Jiansheng

Institute for Geriatrics, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan, China (Qin YQ, Li JS); Experimental Center of Molecular Biology, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan, China (Chen YL)

Corresponding author: Chen Yulong, Email: cyl72621@163.com

【Abstract】 Cell culture technology is the most commonly used method in the *in vitro* experiments at present. However, monolayer cell culture technology has been unable to meet the demand of the researchers. This is because that monolayer cell culture cannot mimic the cellular environment in which multiple cells interact with each other in the body. We cannot discuss the relationship of many cells, because we do not know the relationship between cells through a single kind of cell. So cell co-culture medicine arises at the historic moment for the demand. With the development of research method in recent years, cell co-culture method also has been improved in practice: from direct contact co-cultures to indirect contact co-cultures, from two-dimensional co-cultures to three-dimensional co-cultures. Cell co-culture method is closer to the human body. It is also more advantageous to study the interaction among cells. Nowadays, there are more researchers tend to select this method to study the physiological and pathological *in vitro* model, tissue engineering, and cell differentiation research. At the same time, it has become the focus of drug research and development, drug analysis, mechanism of drug action, and drug targets. This article will review the studies of cell co-culture method, summarize advantages and disadvantages of various methods, so as to promote improvement of cell culture methods, to build cells co-culture system that more close to human body, and build the *in vitro* model that simulate internal circulation of human body further.

【Key words】 Cell co-culture; Direct contact co-culture; Indirect contact co-culture; Three-dimensional co-culture system

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81130062)

细胞培养的历史应追溯到 19 世纪 80 年代, 德国学者 Wilhelm Roux 从鸡胚中分离细胞首次建立体外细胞培养; Earle 和 Dulbecco 于 1943 年创建了单层细胞培养。细胞培养技术于 20 世纪 30 年代传入我国, 最早开展在植物胚芽的培养上^[1], 因其具有培养简单、易操作、费用低、可大量应用的优点, 被广泛应用于生物学及组织学的各个领域^[2]。然而, 单层细胞培养虽然易于操作、培养条件便于调控, 但与

人体内环境存在差距; 而细胞共培养技术能弥补单层细胞培养的缺陷, 有利于构建更接近人体状态的体外生理或病理模型。

细胞共培养又称为复合培养或混合培养, 是指将 2 种或 2 种以上细胞放在同一培养系统中培养。与单层细胞培养技术相比, 细胞共培养技术可以很大程度地模拟体内环境, 以便更好地观察细胞与细胞、细胞与培养环境之间的相互

作用,通过检测不同细胞因子之间的关系,探讨药物的作用机制和可能的作用靶点。细胞共培养技术一直倍受关注,主要用于研究诱导干细胞分化^[3-4]、提高代谢物产量^[5]、提高细胞生存能力、维持细胞功能和活性^[6-7]、体外组织的构建等^[8]。目前,细胞共培养方法主要包括直接接触共培养、间接接触共培养和三维细胞共培养,3种方法的选择主要根据共培养细胞的正常形态、研究者的目的以及研究能否方便、顺利进行而决定。

1 直接接触共培养法

直接接触共培养是指把2种或2种以上细胞放在同一培养体系中,使之直接接触。这种方法适用于体内邻近的组织细胞,主要因为这些细胞在体内可通过通讯连接、封闭连接和锚定连接等方式传递所产生的细胞因子,而直接接触式培养可保留这些连接信息,使培养的细胞更接近体内自然状态^[9];该方法还适用于2种生长状态相同的细胞,例如2种贴壁细胞或2种悬浮细胞。这种方法的优点是操作方便,对培养皿或培养瓶的要求较低,一般常用的细胞支持物即可。该方法主要用于研究细胞间相互作用以及诱导细胞分化。刘尧^[10]将人骨髓间充质干细胞(hBMSCs)与人软骨细胞(hACs)从人体分离培养后,接种于丝素蛋白支架上进行直接共培养,通过苏木素-伊红(HE)染色技术、II型胶原染色技术观察细胞形态,并与在同样支持物下用诱导剂培养的hBMSCs,以及单纯hACs进行比较,发现hBMSCs与hACs直接接触共培养有利于软骨细胞外基质的产生。Watanabe等^[11]发现,在与自身骨髓间充质干细胞(BMSCs)的相互接触共培养中,骨髓核细胞生物学活性明显提高。还有研究表明,将内皮细胞和神经干细胞直接接触共培养后,在血管内皮生长因子的作用下,内皮细胞可以促进神经干细胞增殖,并有向神经细胞分化的趋势^[12]。

临床细胞移植治疗也可以被看作是外源细胞和自身细胞的直接接触共培养,其中间充质干细胞因易获得、易培养、较稳定,具有强大的增殖能力,且不违背伦理道德被广泛用于科研与临床^[13-15]。陈肖等^[16]将分离的BMSCs接种于创伤弧菌脓毒症模型小鼠,探讨其对创伤弧菌脓毒症肺损伤的作用,发现BMSCs可降低炎症因子水平并减轻肺损伤。虽然直接接触共培养操作简单,但其难度在于对指标的考察,因为很难用一般的方法将2种形态相同的细胞区别开来,目前可以使用形态学方法检测,或者用双标免疫组化技术或原位杂交技术,或用不同的荧光标记,亦可以用2种不同标记的抗体或探针进行免疫组化或杂交,以分清2种不同的细胞,并可分析2种细胞之间的关系。

2 间接接触共培养法

2.1 条件培养基共培养法:条件培养基是用培养过一种细胞的培养基培养另一种细胞,2种细胞不直接接触,而细胞因子可以交流,其优点是可以消除目的细胞对条件细胞的影响,突出条件细胞对目的细胞的作用。此法简便易行,但是时间上的不统一是不可控因素,因此严格来说,这种方法介于单层细胞培养和共培养之间,是单层细胞培养与共培养之

间的过渡。宋旖文等^[17]利用这种方法观察BMSCs条件培养基对神经干细胞(NSCs)分化的影响,在彻底避免了2种细胞接触产生作用的情况下,观察到NSCs的贴壁分化,肯定了BMSCs条件培养基对NSCs贴壁分化的积极作用,而不依赖于BMSCs本身,为BMSCs条件培养基与NSCs共同移植提供了依据。周凌等^[18]以鸡胚绒毛尿囊膜模型(CAM)作为血管生成体内模型,观察到与单层细胞培养相比,人食管癌细胞株Eca-9706细胞条件培养基可显著增加人脐静脉内皮细胞的增殖、迁移以及小管形成。

2.2 “爬片式”共培养法:“爬片式”共培养法是将细胞先接种在处理后的玻片上,待细胞贴壁后,以一定比例放入另一种细胞的培养皿中与其共培养。有研究者用该方法将接种了骨髓单核细胞的玻片或骨片置入提前24h接种了成骨细胞的培养皿中进行共培养,结果显示,成骨细胞对破骨细胞的调控作用显著,诱导的破骨细胞具有噬骨能力,成功建立了共培养模型,用于成骨细胞和破骨细胞之间的相互调控作用研究^[19]。

2.3 嵌入式细胞共培养法(Transwell小室):嵌入式共培养法又称“筏式”培养法或Transwell共培养体系,是指将带有聚碳酸酯(PC)、聚酯(PET)或胶原包被的聚四氟乙烯(PTFE)膜的Transwell小室放在相应的培养板上建立的共培养体系。Transwell小室底部的膜将上下层细胞分开,膜的直径小于3.0 μm,一般为0.4 μm,细胞不能自由通过此膜,但细胞因子可以自由通过,两者可通过此膜进行信息交流。嵌入式细胞共培养法是目前应用最多的方法。这种间接共培养法可用于各种生长状态的细胞,其优点是便于分离2种细胞,可更好地观察其各自的细胞状态变化,以探讨一种细胞对另一种细胞的作用。Cao等^[20]采用Transwell小室共培养处理过的内皮细胞和上皮细胞,探讨了多壁碳纳米管棕榈酸在心血管疾病中的作用。张明^[21]通过分离、培养人纤维环(AF)细胞与BMSCs,分别吸取第3代AF细胞和BMSCs,按1:1比例分别植于Transwell小室共培养系统中,下室植入BMSCs,上室植入AF细胞,以建立2种细胞间接共培养模型,从而探讨了共培养体系对AF细胞增殖和细胞外基质合成的影响,以及BMSCs是否具有向AF细胞分化的能力。Holownia等^[22]将烟雾处理过的单核细胞株THP-1细胞置于Transwell小室上层,肺泡上皮细胞株A549细胞置于小室下层,共培养24h,探讨香烟烟雾对共培养条件下A549和THP-1细胞的影响,从而得出在暴露于烟雾条件下,THP-1细胞对A549细胞可能有保护作用的结论。

2.4 其他间接接触共培养法:在共培养过程中,研究者也可以用现有的实验设备制作简易的共培养装置。魏会秒^[23]利用自制48孔培养板,以6孔为一个单元,先将大鼠多器官原代细胞单独培养,采用在相邻两孔壁上打孔的方法使6孔细胞培养基共享,从而构成间接共培养体系,建立了大鼠多器官原代细胞共培养模型,并以各原代细胞单独培养作为对照,探讨了不同刺激物对不同靶器官的毒性作用。李华等^[24]采用6孔细胞培养板和6孔悬挂式培养皿建立共培养模型,

将人脐带间充质干细胞及人肝细胞株 LO2 细胞共培养,发现在此条件下,人脐带间充质干细胞可以分化为肝样细胞。

3 三维共培养体系

在动物体内,细胞实际上存在于三维生长环境中,因此,建立三维结构共培养平台日益受到研究者的青睐,目前多选用微结构或生物降解材料创造三维共培养微环境。

有研究表明:利用三维支架将神经细胞和成纤维细胞共培养,发现其在修复神经损伤方面具有很好的效果^[24-25]。Veiga 等^[26]发现,与单层培养比较,将内皮细胞和神经干细胞接种在三维支架上共培养更有利于神经干细胞的增殖及向其分化。郝媛媛^[27]采用具有良好生物相容性和高度透气性的聚二甲基硅氧烷(PDMS)构建微流控芯片共培养平台,用于肺癌化疗耐药研究,证明了肺癌细胞与肿瘤间质成纤维细胞对抗肿瘤药物 VP-16 的耐药与葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)上调有关。有研究者采用微流控芯片共培养体系共培养膀胱肿瘤细胞和成纤维细胞,以观察膀胱肿瘤细胞的能量代谢^[28]。Avci 等^[29]应用聚乙二醇二甲基丙烯酸酯(PEGDA)建立三维 Microwells 球状体模型,以研究胶质母细胞瘤(GBM)的恶化机制,并取得了良好成效。

4 细胞共培养在中医药方面的研究

细胞共培养方法在探讨中医药作用机制方面也起着不可替代的作用,中药多成分复杂,可从多个层面作用于多个靶点。因此,在研究中药作用机制方面,单层细胞难以满足需求,而共培养可以建立更接近内环境的模型,为揭示中药作用机制及药理、毒理提供技术平台。原江锋等^[30]将人脐静脉内皮细胞株 ECV304 细胞与小鼠神经胶质瘤细胞株 C6 细胞共培养建立血脑屏障(BBB)药物筛选模型,发现丹参提取液中有 16 种成分可以穿过 BBB。刘学伟^[31]用淋巴细胞和人永生表皮细胞株 HaCaT 细胞共培养建立慢性湿疹细胞模型,以进行慢性湿疹的药效学实验和药物筛选,并取得很好的效果。还有研究者通过建立肿瘤相关的人巨噬细胞株 TAMs 细胞与人子宫内膜癌细胞株 Ishikawa 细胞共培养模型,研究白花蛇舌草黄酮和多糖对共培养体系的影响,发现白花蛇舌草黄酮能抑制细胞产生白细胞介素-10(IL-10),阻断细胞核转录因子- κ B p65(NF- κ B p65)信号通路的表达,从而抑制与 TAMs 细胞共培养的 Ishikawa 细胞增殖^[32]。但该方法在中医药方面的应用还存在一定的局限性,多采用二维培养体系,不能完全模拟人体多细胞相互作用的内环境。因此,建立多细胞共培养的体外模型将为中医药研究提供新的技术支持。中药在临床及科研中多以复方的形式出现,复方制剂直接加入到培养体系中,会受制剂的杂质、pH 值、渗透压等影响^[33],含药血清代替中药复方可以大幅度降低这些影响。

综上所述,细胞共培养法越来越多地被研究者使用,也不断被改进、更新,使之更利于研究。在二维共培养体系中,Transwell 小室共培养体系因操作简单,便于观察细胞形态变化而被广泛应用。支架、芯片等构成的三维共培养体系可以为细胞提供更充分的生长环境,更接近人体解剖结构,被

越来越多的人使用。然而,随着方法的不断改进,更加接近人体的多种细胞共培养体系,甚至模拟人体内循环的体外模型也会慢慢进入实验室,为科研与临床服务。

参考文献

- [1] 谷鸿喜,张凤民,凌虹.细胞培养技术[M].北京:北京大学医学出版社,2012.
- [2] 翟中和,王喜忠,丁明孝.细胞生物学[M].北京:高等教育出版社,2011.
- [3] Rebelo SP, Costa R, Silva MM, et al. Three-dimensional co-culture of human hepatocytes and mesenchymal stem cells: improved functionality in long-term bioreactor cultures [J/OL]. J Tissue Eng Regen Med, 2015 [2015-11-15]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26511086> [published online ahead of print October 29, 2015]. DOI: 10.1002/term.2099.
- [4] Song K, Li W, Wang H, et al. Investigation of coculture of human adipose-derived stem cells and mature adipocytes [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2012, 167 (8): 2381-2387. DOI: 10.1007/s12010-012-9764-y.
- [5] 王义,杨晶,孙春玉,等.人参与胡萝卜混合培养物的代谢产物研究[J].食品科学,2008,29(2):126-129. DOI: 10.3321/j.issn.1002-6630.2008.02.021.
- [6] Wang Y, Yang J, Sun CY, et al. Study on metabolite of suspension co-culture with panax ginseng and daucus carota [J]. Food Sci, 2008, 29 (2): 126-129. DOI: 10.3321/j.issn.1002-6630.2008.02.021.
- [7] Li JW, Guo XL, He CL, et al. In vitro chondrogenesis of the goat bone marrow mesenchymal stem cells directed by chondrocytes in monolayer and 3-dimensional indirect co-culture system [J]. Chin Med J (Engl), 2011, 124 (19): 3080-3086. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2011.19.024.
- [8] Zhang B, Yang S, Zhang Y, et al. Co-culture of mesenchymal stem cells with umbilical vein endothelial cells under hypoxic condition [J]. J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci, 2012, 32 (2): 173-180. DOI: 10.1007/s11596-012-0031-9.
- [9] Bersini S, Gilardi M, Arrigoni C, et al. Human in vitro 3D co-culture model to engineer vascularized bone-mimicking tissues combining computational tools and statistical experimental approach [J]. Biomaterials, 2016, 76 : 157-172. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.10.057.
- [10] 詹秀琴,姜泽群.干细胞共培养技术在医学研究中的应用[J].中国细胞生物学学报,2014,36(8):1178-1185. DOI: 10.11844/cjeb.2014.08.0027.
- [11] Zhan XQ, Jiang ZQ. Cell co-culture technique in the medical research of stem cells [J]. Chin J Cell Biol, 2014, 36 (8): 1178-1185. DOI: 10.11844/cjeb.2014.08.0027.
- [12] 刘尧.共培养技术用于体外构建组织工程软骨的实验研究[D].苏州:苏州大学,2014.
- [13] Liu Y. The experimental study of co-culture technology for the construction of engineered cartilage in vitro [D]. Suzhou: Coochow University, 2014.
- [14] Watanabe T, Sakai D, Yamamoto Y, et al. Human nucleus pulposus cells significantly enhanced biological properties in a coculture system with direct cell-to-cell contact with autologous mesenchymal stem cells [J]. J Orthop Res, 2010, 28 (5): 623-630. DOI: 10.1002/jor.21036.
- [15] Sun J, Zhou W, Ma D, et al. Endothelial cells promote neural stem cell proliferation and differentiation associated with VEGF activated Notch and Pten signaling [J]. Dev Dyn, 2010, 239 (9): 2345-2353. DOI: 10.1002/dvdy.22377.

- [13] 陈齐红, 邱海波, 杨毅. 间充质干细胞治疗急性肺损伤作用机制研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 2012, 24 (10): 637-640. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2012.10.020.
Chen QH, Qiu HB, Yang Y. Research progress of mechanism of mesenchymal stem cell therapy in acute lung injury [J]. Chin Crit Care Med, 2012, 24 (10): 637-640. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2012.10.020.
- [14] 王利, 赵莎莎, 赵小利, 等. 间充质干细胞微泡的组织修复及其机制的研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (11): 845-848. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.11.018.
Wang L, Zhao SS, Zhao XL, et al. Effect of tissue repair of mesenchymal stem cells and advancement of its mechanism [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (11): 845-848. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.11.018.
- [15] 陈岩, 杨关林, 白雪松, 等. 穴位注射骨髓间充质干细胞对急性心肌梗死模型大鼠血流动力学的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2013, 20 (4): 223-226. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2013.04.013.
Chen Y, Yang GL, Bai XS, et al. Effect of acupoint injection of bone marrow mesenchymal stem cells on hemodynamics of rat model with acute myocardial infarction [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2013, 20 (4): 223-226. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2013.04.013.
- [16] 陈肖, 梁欢, 连洁, 等. 骨髓间充质干细胞对创伤弧菌脓毒症肺损伤的保护作用[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (11): 821-826. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.11.011.
Chen X, Liang H, Lian J, et al. The protective effect of bone marrow mesenchymal stem cell on lung injury induced by vibrio vulnificus sepsis [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (11): 821-826. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.11.011.
- [17] 宋旖文, 徐鹏, 尤涛, 等. 条件培养基培养神经干细胞的体外实验研究[J]. 安徽医科大学学报, 2014, 49 (5): 598-602.
Song PW, Xu P, You T, et al. Effects of conditioned medium on neural stem cells in vitro [J]. Acta Univ Med Anhui, 2014, 49 (5): 598-602.
- [18] 周凌, 尹素改, 吴耀松, 等. 六君子汤对食管癌细胞株 EC9706 致血管生成的影响[J]. 中成药, 2015, 37 (6): 1165-1169. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2015.06.003.
Zhou L, Yin SG, Wu YS, et al. Effect of LiuJunzi Decoction on angiogenesis of esophageal cancer cell line EC9706 [J]. Chin Tradit Pat Med, 2015, 37 (6): 1165-1169. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2015.06.003.
- [19] 鲁秀敏, 陈林, 苏楠, 等. 小鼠成骨细胞和破骨细胞共培养模型的建立[J]. 中国骨质疏松杂志, 2008, 14 (3): 159-163. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2008.03.004.
Lu XM, Chen L, Su N, et al. Establishment of co-culture model of mouse osteoblasts and osteoclasts [J]. Chin J Osteoporosis, 2008, 14 (3): 159-163. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2008.03.004.
- [20] Cao Y, Roursgaard M, Jacobsen NR, et al. Monocyte adhesion induced by multi-walled carbon nanotubes and palmitic acid in endothelial cells and alveolar-endothelial co-cultures [J]. Nanotoxicology, 2016, 10 (2): 235-244. DOI: 10.3109/17435390.2015.1048325.
- [21] 张明. 人纤维环细胞与骨髓间充质干细胞 Transwell 共培养研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2012.
Zhang M. The experimental study of human annulus fibrosus cell and bone marrow mesenchymal stem cells co-culture by Transwell [D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2012.
- [22] Holownia A, Wielgat P, Kwolek A, et al. Crosstalk Between Co-cultured A549 Cells and THP1 Cells Exposed to Cigarette Smoke [J]. Adv Exp Med Biol, 2015, 858: 47-55. DOI: 10.1007/5584_2015_112.
- [23] 魏会秒. 大鼠多器官原代细胞共培养模型及其应用研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2014.
Wei HM. Primary rat multiple organ cell co culture model and its application [D]. Shanghai: The Second Military Medical University, 2014.
- [24] 李华, 文峰, 漆仲春, 等. 人脐带间充质干细胞与肝细胞共培养可分化为肝样细胞[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17 (32): 5772-5777. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2013.32.005.
Li H, Wen F, Qi ZC, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells co-cultured with hepatocytes can differentiate into hepatocyte-like cells [J]. J Clin Rehabil Tissue Eng Res, 2013, 17 (32): 5772-5777. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2013.32.005.
- [25] Baltich J, Hatch-Vallier L, Adams AM, et al. Development of a scaffoldless three-dimensional engineered nerve using a nerve-fibroblast co-culture [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2010, 46 (5): 438-444. DOI: 10.1007/s11626-009-9260-z.
- [26] Veiga DD, Antunes JC, Gómez RG, et al. Three-dimensional scaffolds as a model system for neural and endothelial 'in vitro' culture [J]. J Biomater Appl, 2011, 26 (3): 293-310. DOI: 10.1177/0885328210365005.
- [27] 郝媛媛. 微流控芯片细胞共培养平台的构建及其在肺癌化疗耐药研究中的应用[D]. 大连: 大连医科大学, 2013.
Hao YY. Fabrication of microfluidic co-culture chip platform and its application in lung cancer chemoresistance research [D]. Dalian: Dalian Medical University, 2013.
- [28] Xu XD, Shao SX, Cao YW, et al. The study of energy metabolism in bladder cancer cells in co-culture conditions using a microfluidic chip [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8 (8): 12327-12336.
- [29] Avei NG, Fan Y, Dragomir A, et al. Investigating the Influence of HUVECs in the Formation of Glioblastoma Spheroids in High-Throughput Three-Dimensional Microwells [J]. IEEE Trans Nanobioscience, 2015, 14 (7): 790-796. DOI: 10.1109/TNB.2015.2477818.
- [30] 原江锋, 崔军见, 尚卫, 等. 血脑屏障药物筛选模型的建立及丹参活性成分筛选分析[J]. 中国科学: 化学, 2010, 40 (6): 717-724.
Yuan JF, Cui JJ, Shang W, et al. Establishment of blood-brain barrier model and its application to the screening of active components from Danshen extracts [J]. Sci China: Chem, 2010, 40 (6): 717-724.
- [31] 刘学伟. 湿疹纳米乳膏成分对淋巴细胞和 HaCaT 细胞共培养的实验研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2013.
Liu XW. Experimental study on the composition of co culture of eczema nano cream on lymphocytes and HaCaT cells [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2013.
- [32] 李柳叶, 邢玉, 包晓霞, 等. 白花蛇舌草黄酮和多糖对与肿瘤相关巨噬细胞共培养的人子宫内膜癌 Ishikawa 细胞的影响[J]. 中国妇产科临床杂志, 2015, 16 (2): 150-153. DOI: 10.13390/j.issn.1672-1861.2015.02.016.
Li LY, Xing Y, Bao XX, et al. Effect of flavonoids and polysaccharides extracts from Hedyotis diffusa on human endometrial carcinoma cell line Ishikawa co-cultured with tumor-associated macrophages [J]. Chin J Clin Obst Gynecol, 2015, 16 (2): 150-153. DOI: 10.13390/j.issn.1672-1861.2015.02.016.
- [33] 罗云, 孙桂波, 秦蒙, 等. 细胞共培养技术在医药研究中的应用[J]. 中国中药杂志, 2012, 37 (22): 3345-3349. DOI: 10.4268/cjcm20122201.
Luo Y, Sun GB, Qin M, et al. Application of cell co-culture techniques in medical studies [J]. China J Chin Mater Med, 2012, 37 (22): 3345-3349. DOI: 10.4268/cjcm20122201.

(收稿日期: 2015-12-11)

(本文编辑: 孙茜, 李银平)