

## التحليل من أعلى للأسفل لبيئة ديناميكية:

### بنية ووظيفة المصفوفة خارج الخلية

#### Top-Down Analysis of a Dynamic Environment: Extracellular Matrix Structure and Function

*Mandana Veisheh, Eva A. Turley, and Mina J. Bissell*

#### المحتويات CONTENTS

٥٠	INTRODUCTION	مقدمة (٢,١)
٥١	STRUCTURE AND FUNCTION OF NORMAL ORGANS AND TISSUES	بنية ووظيفة الأعضاء والأنسجة الطبيعية (٢,٢)
٥٣	EXTRACELLULAR MATRIX	المصفوفة خارج الخلية (٢,٣)
٥٤	Composition of ECM	تركيب المصفوفة خارج الخلية (٢,٣,١)
٥٥	Structural Elements of ECM	العناصر البنوية للمصفوفة خارج الخلية (٢,٣,٢)
٥٥	Nonfibrous Components	المكونات غير الليفية (٢,٣,٢,١)
٥٦	Fibrous Components	المكونات الليفية (٢,٣,٢,٢)
٥٧	Multidomain Proteins	البروتينات متعددة المجالات (٢,٣,٢,٣)
٥٩	FUNCTIONS OF EXTRACELLULAR MATRIX	وظائف المصفوفة خارج الخلية (٢,٤)
٦٠	Cell-Extracellular Matrix Interactions	تفاعلات خلية-مصفوفة خارج الخلية (٢,٤,١)

(٢,٥) تفاعل الخلايا-المواد الحيوية: العناصر الرئيسية CELL-BIOMATERIALS INTERACTION: THE CENTRAL

٦٤	PLAYERS
٦٤	Adhesion الالتصاق (٢,٥,١)
٦٦	Ultra-Signaling To Ultra-Patterns نقل إشارات فائقة لأنماط فائقة (٢,٥,٢)
٦٧	CONCLUSIONS الاستنتاجات (٢,٦)
٦٧	FUTURE DIRECTION التوجه المستقبلي (٢,٧)
٦٧	ACKNOWLEDGMENTS شكر وتقدير
٦٨	REFERENCES المراجع

## (٢,١) مقدمة INTRODUCTION

تعتبر المصفوفة خارج الخلية (ECM) وشكلها المتخصص والغشاء القاعدي (basement membrane - BM) عناصر ديناميكية وأساسية لا غنى عنها لجميع الأعضاء فهي تقوم بتوفير الحمل البنيوي للخلايا والأنسجة والمعلومات السياقية [1,2]. إن المصفوفة خارج الخلية (ECM)، بكونها عنصراً من الأنسجة، هي ثلاثية الأبعاد (3D) وهي عبارة عن مركب كيميائي غير متجانس (heterogeneous) مصنوعة من وحدات بنيوية ووظيفية متعددة والتي تماثل لَجِيناً (ligand) (جزئيء يلتحم بجزئيء آخر) متعدد التكافؤ (multivalent). إن المفهوم الذي يتجلى وراء وظائف المصفوفة خارج الخلية (ECM) بتوفيرها لبيئة ساكنة أو بنيوية كان قد عُرض في الأصل في دراسات البيولوجيا التطورية [3] كما أن وجود النقل المتبادل (cross - talk) بين المصفوفة خارج الخلية والكروماتين (chromatin)، والمسمى اصطلاحاً "التبادلية الديناميكية" ("dynamic reciprocity") كان قد اقترح بالبداية في نموذج نظري في عام ١٩٨٢ [4]. هذه النتائج هي الآن قيد النقل في هندسة الأنسجة: "وهو مجال متعدد التخصصات يُطبّق مبادئ العلوم الهندسية وعلوم الحياة في اتجاه تطوير بدائل بيولوجية (biological substitutes) من أجل إصلاح أو تجديد وظائف الأنسجة أو الأعضاء" [5,6].

إن الفهم المفصّل لبنية ووظيفة الأنسجة الطبيعية، بالإضافة إلى القدرة على محاكاة الوظائف الموضعية (in situ) بشكلٍ دقيق هو أمر أساسي لتطوير الأعضاء الاصطناعية (artificial organs) وإستراتيجيات هندسة الأنسجة. وهذا ليس ممكناً من دون الأخذ بعين الاعتبار الأدوار التي تلعبها المصفوفة خارج الخلية (ECM) في تفاعلاتها مع الخلايا والخلايا - المواد الحيوية. فما إن توضع الخلايا على تماس مع مادة حيوية ملائمة [7]، حتى تستمر في الازدياد والتكاثر والتمايز وإفراز العوامل (secrete factors) بما في ذلك جزيئات المصفوفة خارج الخلية (ECM) وتقوم بإعادة تشكيل (remodel) بيئتها. ومن أجل التوصل إلى الفهم الجزئي لهذه العملية، فقد اعتمد علماء البيولوجيا الجزيئية والخلوية ولعقود على زراعة الخلايا على ركائز (طبقات

سطحية) ثنائية الأبعاد (2D substrata). وعلى أي حال، فإن وظائف الخلية - المصفوفة خارج الخلية (ECM) تكون مختلفة بشكل كبير في الأنظمة ثنائية الأبعاد مقابل الأنظمة ثلاثية الأبعاد (3D) أو حتى في الأنظمة ثلاثية الأبعاد مقابل الأنظمة في الجسم الحي [8-12]. وقد تم في عددٍ من النشرات الحديثة من مختبرنا وصف أهمية البيئة المايكروية والمصفوفة خارج الخلية (ECM) والبنية الهندسية ثلاثية الأبعاد في تحديد نوعية العضو بتفصيلٍ أكثر مما سوف يُنظر إليه هنا [13-15].

لقد أدى فهمنا الحالي لأهمية نقل الإشارات بواسطة البيئة المايكروية (microenvironment - mediated signaling) في تحديد نوعية الأنسجة وبنيتها الهندسية، وعلى التوازي مع التقدم في تقنية النانو، إلى إمكانية ابتكار منتجات نسيجية مهندسة (tissue - engineered products) ذات خصائص أكثر شبيهاً بخصائص الأنسجة الأصلية. وحيث إن سياق البيئة المايكروية والبنية الهندسية للأنسجة قد سبق بحثها في الغدد الثديية (mammary glands)، فإننا نلفت الانتباه هنا إلى "البيئة النانوية" ("nanoenvironment") من خلال النظر في البنى النانوية الوظيفية الرئيسية التي تشكل المصفوفة خارج الخلية (ECM). في الواقع، فإن العديد من الجزيئات البيولوجية (مثل البروتينات والاتصالات البؤرية (focal adhesions)) هي بنى نانوية؛ وبالتالي فإن الخلايا في أجسامنا مبرمجة على التفاعل مع المواد ذات الطور النانوي (nanophase materials). باستخدام الطريقة من أعلى إلى أسفل (top - down approach)، والتي تُعرّف في تقنية النانو بأنها الطرق والأدوات اللازمة لبناء المكونات الصغيرة بدءاً من المواد المنتظمة الأكبر [16]، وسنشرح البيئة المايكروية للأنسجة (المادة الأكبر) في مكوناتها الأصغر (مكونات المصفوفة خارج الخلية) وسنحلل بعضاً من أدوارها التنظيمية في بنية الأنسجة الهندسية ووظيفتها في هذا الفصل. وسنصف على وجه التحديد المبادئ الرئيسية التي تنظم بنية ووظيفة الأعضاء والأنسجة الطبيعية باستخدام تخلق أو تكون غدة الثدي (mammary gland morphogenesis) كمثال (على الرغم من أن هذه المبادئ الأساسية تتجاوز هذا العضو)، إضافة إلى تلك المبادئ الخاصة بتفاعل المصفوفة خارج الخلية (ECM) مع الخلايا داخل الأنسجة أو المواد الحيوية الصلبة. وسنستنتج أنه على الرغم من أننا نعرف الحروف الأبجدية ولو لبعضٍ من لغة الجينات المشاركة في هذه العمليات، إلا أننا لا نفهم حتى الآن الحروف الأبجدية ومنطق البنية الهندسية للعضو في المستوى الفيزيولوجي النانوي، والذي يُعد أمراً ضرورياً لمحاكاة (imitate) وظيفة العضو بشكلٍ دقيق في هندسة الأنسجة.

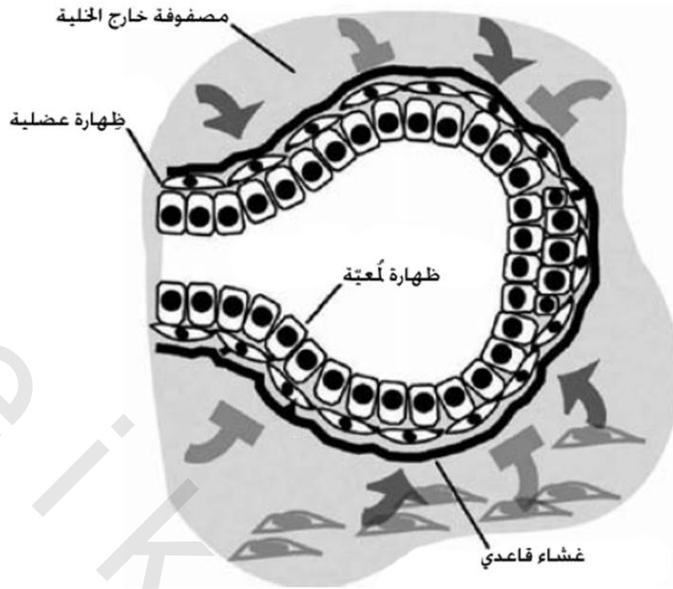
## (٢،٢) بنية ووظيفة الأعضاء والأنسجة الطبيعية STRUCTURE AND FUNCTION OF NORMAL ORGANS AND TISSUES

تتكون الأعضاء من أنواع مختلفة من الخلايا والمصفوفات خارج الخلايا (ECM) منظمة في أنماط بنوية معقدة مكانياً. وكل عضو له شكل مميز (أي نمط بنوي فريد) مصمم خصيصاً لتنسيق وظائفه الفيزيولوجية. على سبيل المثال، تتكون العضلة الهيكلية (skeletal muscle) من خلايا الأرومة العضلية (myoblasts) مُدمجة في ألياف عضلية مَحْلُوبَة (syncytial myofibers) كبيرة ومرتبطة في حزم كثيفة وبتنظيم يسمح بنقل مُنسَق للقوى الميكانيكية لمسافات طويلة، وهي مهمة غير ممكنة لخلايا الأرومة الليفية العضلية (myofibroblasts) المفردة. وتظهر علاقات فريدة بين الشكل والوظيفة في الأنسجة ذات

الوظائف الامتصاصية (absorptive functions) أو الوظائف الإفرازية (secretory functions) مثل الرئة والكلية والأمعاء و غدة الثدي ، حيث تكون الظهارة (epithelium) منظمة في وحدات بنوية مصممة لزيادة مساحة السطح إما للامتصاص أو الإفراز [17]. وبالتالي ؛ تتكون بنية جميع الأعضاء من عناصر خلوية وخارج خلوية محددة، وتُفرض البنية الهندسية من خلال الحاجة الوظيفية. تحتفظ مكونات الخلية والمصفوفة خارج الخلية (ECM) في الأعضاء بذاكرة العمليات التطورية (developmental processes) التي أدت إليها، وتبقى هذه مستقرة طالما لا تتوقف التفاعلات الفيزيولوجية لخلية-خلية و خلية-مصفوفة خارج الخلية مع الإشارات الخَلَطِيَّة (humoral signals) المناسبة. ويمكن لفقدان أو سوء تنظيم هذه التفاعلات أن يؤدي إلى حالات مرضية ينتج عنها فقدان اكتمال البنية الهندسية وبالتالي إخلال بوظيفة الأنسجة.

وعلى الرغم من أن معظم الأعضاء تبلغ حالتها التطورية الثابتة في نهاية مرحلة التكوّن الجنيني (embryogenesis)، إلا أن بعضها يخضع أيضاً إلى تغييرات تطورية كبيرة في مرحلة البلوغ. إن غدة الثدي والأمعاء هما مثالان على ذلك، فكلاهما يقدم نماذج ممتازة لتَحَلُّق الأنسجة (tissue morphogenesis) والاستتباب (homeostasis) (التوازن الداخلي) في بيئات ثلاثية الأبعاد بما في ذلك حاملات الخلايا والأنسجة المصممة (designer scaffolds) والمستخدمه في هندسة الأنسجة. سُرُكز في هذا الفصل على غدة الثدي (الشكل رقم ٢.١) [18]. بغض النظر عن حالتها التطورية، فإن ظهارة الثدي (mammary epithelium) هي بنية مُسْتَقْبَبة ثنائية الطبقات (polarized bilayered structure) مكونة من تجمّع داخلي مستمر لخلايا لمعيّة ظهارية (luminal epithelial cells) محاطة بطبقة خارجية من الخلايا الظهارية العضلية (myoepithelial cells). وهذه الطبقة الثنائية مفصولة عن السدى (stroma) بواسطة غشاء قاعدي غني ببروتين اللامينين (laminin - rich basement membrane) (IrBM). يُعد السدى وسطاً ضامماً (connective milieu) يتألف من خلايا الأرومة الليفية (fibroblasts) وخلايا شحمية (adipocytes) وأعصاب وأوعية دموية وأوعية لمفاوية (lymphatics) وخلايا مناعية (لمزيد من التفاصيل، انظر [19-21]). خلال فترة البلوغ تتفرّع ظهارة غدة الثدي إلى العديد من القنوات (ducts) ذات البنى الانتهائية والمعروفة باسم العُنَيْبات (acini) لوحدات فُصِيصِيَّة قنويّة انتهائية (terminal ductal lobular units - TDLU) في البشر.

يتم الحفاظ على هذا النمط البنيوي في الغدة العذراء بعد البلوغ (postpubertal virgin gland) ولكن يتم تعديلها أثناء الحمل والرضاعة والأوب (involution) (الالتفاف أو الانطواء إلى الداخل). تصل غدة الثدي المرصعة حالتها التطورية بشكلٍ كامل وحالتها الوظيفية بشكلٍ كامل فقط بعد الولادة. ويُحرّض إفراز الحليب عبر الحلمة (nipple) بواسطة الرضاعة وينتج عن التقلص المتزامن (synchronized contraction) للخلايا الظهارية العضلية (والتي هي نفسها مُحَرّضة بواسطة الأوكسيتوسين (oxytocin)، وهو هرمون معجّل للولادة، من الغدة النخامية (pituitary)) التي تحيط بالخلايا المنتجة للحليب (الخلايا اللُمعيّة الظهارية) والتي تعصر الحليب عبر الشجرة الثديية (mammary tree). وتعيد الغدة الثديية بناء نفسها عائدةً إلى حالة الراحة المشابهة للحالة العذراء أثناء الأوب: حيث يموت العديد من الخلايا الظهارية عن طريق الموت المبرمج للخلايا (apoptosis)، وتتهار الأسنان (alveoli) (الحويصلات) وتفقد قدرتها على إنتاج الحليب. وهكذا يؤدي العمل المنسق للهرمونات وإنزيمات البروتيناز المعدنية (metalloproteinases)، والجزيئات المميتة للخلايا (apoptotic molecules) والمنتجات الجينية الأخرى [22-24] إلى إظهار الوظائف المحددة للعضو.



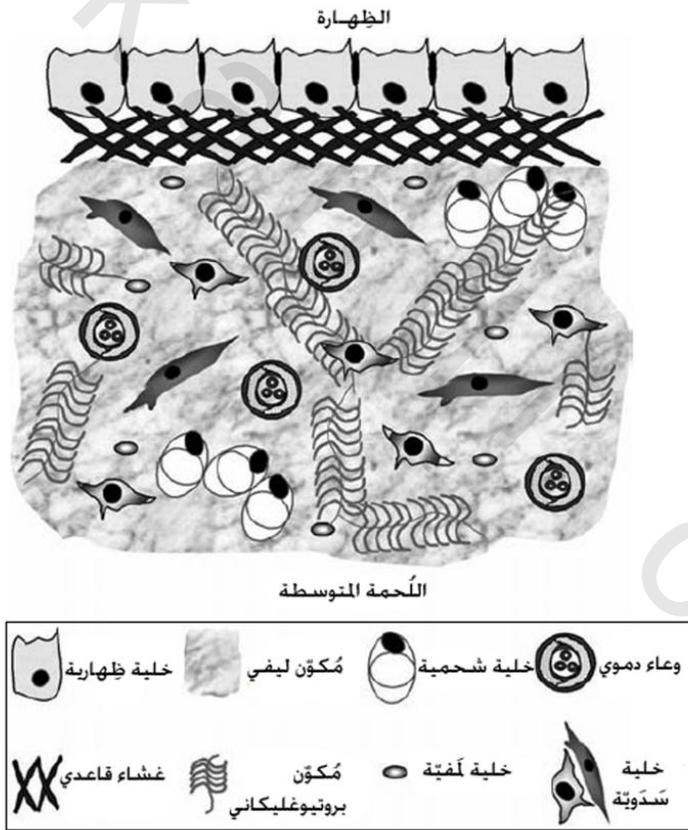
الشكل رقم (٢،١). بنية هندسية طبيعية لغدة الثدي (mammary gland architecture) في الحالة "العدراء" ("virgin" state). وحدة البنية الثديية هي الأليفة (acinus) حيث الطبقة المستمرة من الخلايا اللُمعية الظهارية (luminal epithelial cells) محاطة بطبقة من الخلايا الظهارية العضلية (myoepithelial cells)، وهذه البنية ثنائية الطبقات (bilayered structure) مغلقة بواسطة غشاء قاعدي (BM). (معدلة من Bissell, M.J. and LaBarge, M.A., *Cancer Cell*, 7, 17, 2005).

### (٢،٣) المصفوفة خارج الخلية EXTRACELLULAR MATRIX

هي عملياً موجودة في جميع الأنسجة وبشكل خاص مهيمنة في الأنسجة الضامة (connective tissues)، وتقع المصفوفة خارج الخلية (ECM) في فئتين رئيسيتين: مصفوفة خارج الخلية (ECM) خِلائية (interstitial) / سَدَوِيَّة (stromal) وغشاء قاعدي (BM) [25]. توجد المصفوفة خارج الخلية (ECM) الخِلائية كمادة بين الخلايا، بين وحول خلايا النسيج الضام، في حين أن الغشاء القاعدي (BM) موجود عند سطح القاعدة الجانبية (basolateral surface) للعديد من أنواع الخلايا الظهارية في عدد من الأنسجة [2]. إن الغشاء القاعدي (BM) يُشبه ركيزة من الورق الرقيق الصلب [26] تلتصق عليه الخلايا ويزود بكل من الدعم البنيوي والمعلومات السياقية. وهو على وجه الخصوص مُنظَّم هام لقطبية (polarity) وتمايز ونمو الخلايا والموت المبرمج والتعبير الجيني (gene expression) للخلايا [27]. تقوم أنواع الخلايا المتوسِّطية (mesenchymal cell) مثل خلايا الأرومة الليفية والخلايا العضلية الملساء (smooth muscle cells) بإنتاج المصفوفة خارج الخلية (ECM) بشكلٍ فعّال بينما يتم إنتاج الغشاء القاعدي (BM) في أعضاء ظهارية غُدِّيَّة (glandular epithelial organs) عبر تعاون أنواع مختلفة من الخلايا [28].

## Composition of ECM خارج الخلية (٢,٣,١)

كيميائياً، المصفوفة خارج الخلية (ECM) هي شبكة مُمَيَّهَة (hydrated network) من الجزيئات تتكون من بروتينات وجليكوبروتينات (glycoproteins) (بروتينات سُكَّرِيَّة) وبروتيوغليكانات (proteoglycans) وجزيئات نقل إشارات (signaling molecules) قابلة للذوبان وغير قابلة للذوبان. ويتكون الغشاء القاعدي (BM) بشكلٍ أساسي من بروتينات اللامينين (laminins - Lns) وكولاجين من النمط الرابع (type IV collagen)، وبروتين إنناكتين / نيدوجين ( / entactin / nidogen) وبروتيوغليكانات مثل سلفات (كبريتات) الهيبارين (heparin sulfate) [2]. وبشكلٍ تخطيطي، تشبه المصفوفة خارج الخلية (ECM) مُركَّباً ثلاثي الأبعاد مُقوَّى بالألياف (fiber - reinforced) تنتظم فيه البروتينات مثل الكولاجين والإيلاستين (elastin) في بنى ليفية بينما تُشكِّل البروتيوغليكانات والجليكوبروتينات بالإضافة إلى جزيئات نقل الإشارات القابلة للذوبان وغير القابلة للذوبان من الوسط بين الألياف (interfibrous milieu) (الشكل رقم ٢.٢).



الشكل رقم (٢,٢). عرض تخطيطي للظهارة (epithelium) واللحمة المتوسطة (mesenchyme) بما في ذلك عناصرها البنيوية (غير مرسومة بالمقاييس الحقيقية).

## STRUCTURAL ELEMENTS OF ECM الخلية (٢,٣,٢)

### Nonfibrous Components المكونات غير الليفية (٢,٣,٢,١)

إن الكربوهيدرات (carbohydrates) (السكريات) المرتبطة بالبروتين وبعض أنواع الكولاجين (على سبيل المثال، النمط الرابع والسادس والثامن والثامن عشر والخامس عشر) والموجودة في النسيج الخلائي والأغشية القاعدية هي مكونات غير ليفية (nonfibrous components) للمصفوفة خارج الخلية (ECM). تتكون الكربوهيدرات من عَدِيدَات السُّكَّارِيد (polysaccharides) طويلة السلسلة ومشحونة سلبياً معروفة باسم الغليكوز أمينوغليكانات (glycosaminoglycans - GAGs). إن الغليكوز أمينوغليكان هي سلاسل من عَدِيدَات السُّكَّارِيد مشحونة بشكلٍ عالٍ (وغالباً ما تحوي كبريتات) وهي مصنوعة من تكرار وحدات ثنائي السُّكَّارِيد (disaccharide) غير المتفرعة (الواحدة منها هي سُّكَّر أمينيّ (amino sugar)). وهي مصنفة في أربع فئات رئيسية:

- ١- حَمَضُ الهَيَالورُونِيك (hyaluronic acid) لهيالورونان (hyaluronan - HA)، الغليكوز أمينوغليكان الوحيد غير الحاوي على كبريتات والذي هو أيضاً في الغالب غير مرتبط بشكلٍ تساهمي بالبروتين.
- ٢- كبريتات الكُنْدُرُوتِين (chondroitin sulfate) وكبريتات الديرمانتان (dermatan sulfate)
- ٣- كبريتات الهيباران (heparan sulfate) والهيبارين
- ٤- كبريتات الكيراتين (Keratin sulfate) (والتي تتكون من تكرار ثنائيَّات السُّكَّارِيد لـ إن - أسيتيل غلوكوز أمين (n-acetylglucosamine) وغالاکتوز (galactose) بدلاً من حمض اليورونيك (uronic acid)، ويمكن أن تكون مُسَلَّفَنة (sulphonated) ومرتبطة بالبروتينات)

مع الاستثناء الممكن للهَيَالورُونان (HA)، يتم ربط الغليكوز أمينوغليكانات (GAGs) بشكلٍ تساهمي مع الجزء الأساسي للبروتين (protein backbone) لتشكيل بروتيوغليكانات ذات بنية "فرشاة القارورة" ("bottle brush"). وتنوع البروتيوغليكانات بسبب بروتيناتها المركزية المختلفة والغليكوز أمينوغليكانات المختلفة: وهي تُصنَّف من خلال الغليكوز أمينوغليكان السائد الذي يقوم بتعديل مركز البروتين. على سبيل المثال، السينديكانات (syndecans) (بروتينات مفردة في نطاق عبر الغشاء) هي أمثلة على بروتيوغليكانات كبريتات الهيبارين. بالإضافة إلى أدوارها البنيوية للمصفوفة خارج الخلية (ECM)، تُعدّل معظم البروتيوغليكانات أيضاً نمو وتمايز الخلايا من خلال تنظيم نقل إشارات الخلية. إن الكثير منها، ولكن ليس كلها هي بروتينات غشائية متكاملة. على سبيل المثال، يملك البروتين المركزي للسينديكانات تسلسل غشاء ممتد (membrane spanning sequence) وذيلاً عُصَارِيّاً خَلَوِيّاً قصيراً (short cytosolic tail). يتم تعديل النطاق الخارجي الكبير بواسطة عدد قليل من سلاسل كبريتات الهيبارين. وترتبط السينديكانات بكولاجين المصفوفة خارج الخلية (ECM) وبالفبرونيكتين (fibronectin) (بروتين لاصق للخلايا)، وبالترومبوسبوندين (thrombospondin) (بروتينات مُفَرَّزة ذات قدرات مضادة للتخثر الوعائي)، ومثل العديد من البروتيوغليكانات الأخرى تقوم السينديكانات بتعديل نشاط عوامل النمو [29].

إن الهيالورونان (HA) هو غليكوز أمينوغليكان خطي غير مُسلفن (nonsulfated) مؤلف من تكرار وحدات ثنائييَّ السَّكاريد لحمض بيتا-دي-غلوکورونيك ( $\beta$ -D-glucuronic acid) وإن-أسيتيل-دي-غلوکورامين (N-acetyl-D-glucosamine). وهو من الناحية الفيزيولوجية وفي معظم الأحيان مزيج من الأوزان الجزيئية التي تتراوح من قليلات السَّكاريد (oligosaccharides) إلى الأشكال الجزيئية الكبيرة (على سبيل المثال أكبر من ١٠٠٠ كيلو دالتون) والتي تنتج من التوازن بين تجميع واحد أو أكثر من ثلاثة من إنزيمات السيتناز (HA synthases - HAS) المختلفة [30-32]. خلافاً لإنزيمات السيتناز الخاصة بتركيب الغليكوز أمينوغليكان، تقع إنزيمات السيتناز (HAS1-3) في غشاء البلازما. إن الهيالورونان (HA) هو عنصر مُكوّن للمصفوفة خارج الخلية يتعبّر بشكلٍ عالٍ، وبشكلٍ خاص للمصفوفة خارج الخلية (ECM) الخالية. ومن الجدير بالملاحظة أنه ربما يكون الغليكوز أمينوغليكان الأكثر استخداماً وعلى نطاقٍ واسعٍ في هندسة الأنسجة [33] ولكن الغليكوز أمينوغليكان هو الأقل فهماً من حيث الآليات التي بواسطتها يؤثر على وظيفة الأنسجة. وهذا على الأرجح بسبب تركيز الأبحاث الأولية على لزوجته (viscoelastic) الملحوظة وخصائصه بالارتباط بالماء (water binding) / التميّه (hydrating). على سبيل المثال، فهو يُشكل هلام مُميّه (مائي) لزج (viscous hydrated gel)، والذي يعطي النسيج الضام ضغط التورّم (turgor pressure) (أي ضغط محتويات الخلية مقابل جدار الخلية) والقدرة على مقاومة الانضغاط في نفس الوقت لتوفير المرونة أو الرجوعية للجسم (resilience). وتُسهم الخصائص اللزجة للهيالورونان (HA) أيضاً في وظائفه الفريدة للتزيق (lubricating) والتي تتسم بأهمية خاصة في غضاريف المفاصل (joint cartilages). ويُشكل الهيالورونان (HA) داخل الأنسجة معطفاً محيطاً بالخلايا (pericellular coat) وبشكلٍ خاص حول الخلايا المتنقلة أو المهاجرة (migrating cells) ولكن أيضاً حول الخلايا المستقرة غير المتنقلة (sedentary cells) مثل الخلايا الغضروفية (chondrocytes) [34]. وهو عنصر أساسي للتطور الجنيني، حيث يؤدي الحذف الجيني لإنزيم السيتناز (HAS2) إلى الإماتة الجنينية (embryonic lethality)، وهو عيب يرجع على الأقل في جزء منه إلى وجود خلل في التنقل أو الهجرة والتحوّل الظهاريّ إلى اللُّحمي المتوسّطيّ (epithelial - to - mesenchymal transformation - EMT) أثناء تطور القلب. كما أنه يلعب أدواراً وظيفية متعددة في عدد من الحالات الفيزيولوجية والمرضية وخاصةً الالتهاب المزمن (chronic inflammation) والأمراض الوعائية (vascular disease) والتطور الورميّ (tumor progression) [34-38]. إن الوسيط في تفاعلات الهيالورونان - الخلايا هي مستقبلات سطح الخلية (cell surface receptors)، والتي تشمل (CD 44) و (RHAMM / HMMR) [39] و (LYVE-1) وهو مستقبل الهيالورونان اللمفاوي و (layilin) وهو ليكتين من النمط سي [40] (C - type lectin) ومستقبل ٢، ٤ المشابه للمستقبلات المذهلة (Toll - like receptor 2,4) الذي يربط قليلات السَّكاريد بالهيالورونان (HA) [41]. ويتم توصيف نقل إشارات الخلية بوساطة الهيالورونان (HA) على أفضل وجه من أجل الـ (CD44) و الـ (RHAMM / HMMR) [34,37,42].

### (٢,٣,٢,٢) المكونات الليفية Fibrous Components

تقوم المكونات الليفية للمصفوفة خارج الخلية بوظائف حمل الخلايا والأنسجة، وتوفر التحكم بالصلابة (stiffness) ومقاومة التوتر (tension resistance)، ولكنها أيضاً تربط وتحمّز عوامل الالتصاق (على سبيل المثال الفيبرونيكتين) وبعض

عوامل النمو (على سبيل المثال بروتين تَحَلُّق العظم-٢ (bone morphogenic protein-2)) [43]. تشمل البروتينات الليفية البنيوية الأولية الكولاجين والفيبرين (fibrin) والإيلاستين. وهذه البروتينات هي أساس المصفوفة خارج الخلية (ECM) في جميع الكائنات الحية المتعددة الخلايا. وسيتم مناقشته الكولاجين، وهو عائلة لما لا يقل عن ١٩ من عَدِيدَات الببتيد (polypeptides) المختلفة جينياً ووظيفياً [44]، بمزيد من التفصيل هنا.

تتميز فصيلة البروتينات الكولاجينية بامتداد طويل لطاقات حلزونية ثلاثية (triple helical domains) يمكن أن تنشأ فقط من خلال كون كل ثالث حمض أميني عبارة عن غليسين (glycine) وكل خامس حمض أميني عبارة عن بروبين (proline) (لعرض المزيد عن الكولاجين اقرأ [44,45]). وتوفر عملية إدخال زمرة الهيدروكسيل (hydroxylation) لحوالي ٥٠٪ من بقايا البرولين الاستقرار للتشكيل الحلزوني (helix conformation). وتنقسم الكولاجينات إلى عدد من الأنواع بناءً على الاختلافات في بنيتها البوليمرية [46]. على سبيل المثال، يتكون الكولاجين من النمط الأول، وهو بروتين خطي حلزوني ثلاثي، من سلاسل من اثنين من  $(\alpha_1)$  وواحد من  $(\alpha_2)$  بطول ٣٠٠ نانومتر ويعرض ٠.٥ نانومتراً وبدورية (periodicity) من ٦٧ نانومتراً [47]، إن الكولاجين من النمط الرابع والعشرون والسابع والعشرون كلها كولا جينات ليفية (fibrous collagens) [43]. يتم تركيب الكولاجينات على عَدِيدَات الريبوسومات المرتبطة بالغشاء (membrane - bound polysomes) كأشكال طليعة البروكولاجين (procollagen precursor) القابلة للذوبان، والتي يتم معالجتها بشكلٍ حالٍ للبروتين بعد الإفراز والتجميع الذاتي في لُيْفَات (fibrils). ويحدث الربط العَرَضِيّ أو التشابك (cross linking) مع مرور الوقت ككولاجينات ناضجة في بروتينات ليفية غير قابلة للذوبان في الحيز خارج الخلية. وعلى عكس الكولاجين، يمكن للإيلاستينات (elastins) أن تُفَرَز وتبقى بشكلٍ أساسي في أعضاء لينة مثل الجلد والشرايين. ويمكن للألياف المرنة للمصفوفة خارج الخلية (ECM) أن تكون مُثَبِّة إلى أغشية الخلايا بواسطة بروتينات مُهَيَّئَة (adaptor proteins) مثل الفيولين-٢ (Fibulin-2) [48].

### (٢,٣,٢,٣) البروتينات متعددة المجالات Multidomain Proteins

البروتينات متعددة المجالات، والتي تشمل الفيرونيكتين واللامينين والفيترونيكتين (vitronectin) والإنكتين (entactin) هي المسؤولة عن التصاق وتحرك (motility) الخلايا ضمن المصفوفة خارج الخلية (ECM) وتُستخدَم في حاملات الخلايا والأنسجة الاصطناعية لنفس الغرض. وسنناقش بإيجاز نوعين رئيسيين من بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) متعددة المجالات: الفيرونيكتين (Fn) واللامينين، والتي تؤدي وظائف مختلفة خارج الخلية.

يُعبَّرُ الفيرونيكتين بشكلٍ عالٍ وهو بروتين سُكْرِيّ (غليكوبروتين) ذو وزن جزيئي كبير (تقريباً ٤٤٠ كيلو دالتون (kDa) ويمتلك أماكن ارتباط متعددة لمجموعة متنوعة من مكونات المصفوفة خارج الخلية (ECM). ويتم تركيبه كبروتين كروي (globular protein) قابل للذوبان ويفتح عند الإفراز [49,50]. يُعد الفيرونيكتين ديمراً (dimer) (مُركَّب ينتج عن ارتباط جزيئين متشابهتين) يتكون من اثنين من المواحد (monomers) (مونومرات) المرتبطة بنهاية الطرف (C) بواسطة رابط ثنائي

السُّلفيد (disulfide bond)، بسماكة من ٢ إلى ٣ نانومترات وبطول من ٦٠ إلى ٧٠ نانومتراً. يتكون كل مَوْحُود (مونومر) من سلسلة من أكثر من ٢٥ وحدة كروية مَطْوِيَّة بإحكام ومرتبطة بشكلٍ خطي بواسطة سلاسل قصيرة بين المجالات بمرونة متغيرة [50-52]. يتكون كل مَوْحُود من العديد من المجالات (تسمى Fn1 و Fn2 و Fn3) [53] والتي تُظهر قدرات ارتباط مختلفة من أجل لجأين المصفوفة خارج الخلية (ECM ligands) الأخرى التي تشمل الكولاجينات والفبرين والهيبارينات وسلفات الكُنْدْرُوَيْتِين (مادة من مكوّنات الغضروف). يحتوي الفبرونيكتين أيضاً على مناطق ارتباط من أجل الحمض النووي (DNA) ومن أجل عدد من مستقبلات سطح الخلية. لقد كان النطاق الأول الذي تم تحديده لربط مستقبل الخلية بالفبرونيكتين عبارة عن تسلسل قطعة من ١٢ كيلو دالتون، وهي أرجينين - غليسين - حمض الأسبارتيك (Arg - Gly - Asp - RGD)، والتي تُظهر أفضلية للارتباط بأطراف مستقبلات الإنتغرين (integrin receptors) مثل  $(\alpha_5\beta_1)$  [54-57]. إن الفبرونيكتين مرّن للغاية ويمكن أن يتأثر شكله بصورة ملحوظة عن طريق الترسيب على السطوح [51-58]. تلعب هذه الخصائص ووظائف الالتصاق للفبرونيكتين دوراً رئيسياً في تخثر الدم (blood clotting) والتحكّم بالالتصاق والتقلُّ (الهجرة).

يتم تعيين بروتينات اللامينين كبروتينات سكرية مثنوية مغايرة ( $\alpha_x\beta_y\gamma_z$  heterodimer glycoproteins)، وهي بروتينات الالتصاق والبروتينات الهيكلية الرئيسية في الغشاء القاعدي والمطلوبة لتجميعه. لقد تم حتى الآن وصف ما لا يقل عن ١٥ من بروتينات اللامينين التي يتم اشتقاقها من وحدات فرعية لحمسٍ من  $(\alpha)$  وثلاثٍ من  $(\beta)$  وثلاثٍ من  $(\gamma)$ . وهي بروتينات سكرية كبيرة (تقريباً ٩٠٠ كيلو دالتون) تتألف من ثلاثة عديدات بيتيد مختلفة في التكوين إما بشكلٍ عرضيٍّ وإما بشكلٍ حرف (T) مع ثلاث أذرع قصيرة (بطول  $34 \pm 4$  و تقريباً  $34 \pm 4$  و  $48 \pm 4$  نانومترات)، وذراع واحدة طويل (بطول ٧٧ نانومتراً) [59,60]. وتتكون الأذرع القصيرة من أجزاء لسلسلة واحدة، في حين يتم تشكيل الذراع الطويلة بواسطة أجزاء لكلٍ من السلاسل الثلاث. وتُربط كل السلاسل الفردية مع بعضها البعض بواسطة روابط ثنائية السُّلفيد. ومثل الفبرونيكتين، يتكون اللامينين من سلسلة من المجالات المختلفة مع خصائص المصفوفة خارج الخلية (ECM) والتصاق الخلايا [61,62]: يرتبط اللامينين مع الكولاجين من النمط الرابع وإنتغرينات (مستقبلات) سطح الخلية ومستقبلات الديستروغليكان (dystroglycan) (مستقبلات بروتينية) [63] والسينديكانات والسلفاتيدات (sulfatides) [62]. وعلى وجه التحديد ترتبط مناطق الـ (LG1-3) و (LG4) بالإنتغرين  $(\beta_1)$  والديستروغليكان، على التوالي [64]. إن اللامينين وارتباطه مع هذه المستقبلات الخلوية هو مطلب للعمليات التطورية والتنظيم الخلوي وتمايز الخلايا [62-65]. على سبيل المثال، يؤدي تفاعل اللامينين ١١١ (أي  $\alpha_1\beta_1\gamma_1$ ) مع مستقبلات الإنتغرين والديستروغليكان إلى تغييرات في شكل الخلية وتفعيل تاليات نقل الإشارات التي تنظم تعبير بروتينات الحليب في غدة الثدي [12,64,66,67] حيث يُنتج بشكلٍ أساسي من قبل الخلايا الظهارية العضلية [68]. وهذه هي وظيفة الخلايا الظهارية العضلية التي تسمح لها أن تكون مصدر التنظيم للقبطية الظهارية (epithelial polarity) والوظيفة الظهارية (epithelial function) [69].

## (٢,٤) وظائف المصفوفة خارج الخلية FUNCTIONS OF EXTRACELLULAR MATRIX

تلعب المصفوفة خارج الخلية (ECM) أدواراً حاسمة تؤثر على جميع جوانب استتباب (توازن) الأنسجة والكائن الحي. وهي تشمل تكاثر وتمايز وتحرك وموت الخلايا. وتؤثر المصفوفة خارج الخلية (ECM) على هذه العمليات من خلال تقديم الدعم البنيوي والمنبهات (cues) أو الإشارات (signals) إلى الخلايا. وتعتبر كلتا الوظيفتين أساسية للحفاظ على البنية الهندسية للأنسجة. ومن المسلم به بشكل جيد الآن أن المصفوفة خارج الخلية (ECM) تؤثر على شكل ومصير الخلايا عبر بنيتها المعقدة والمرتبطة بتاليات نقل الإشارات داخل الخلايا [4,67,70,71]. يُحفّز ارتباط هذه المستقبلات بجزيئات المصفوفة خارج الخلية (ECM) إشارة كلاسيكية في الخارج تفعّل تاليات نقل الإشارات متحكمة بدورها بتنظيم هيكل الخلية الهيولي (cytoplasmic cytoskeleton) والهيكل النووي (nuclear skeleton) لتغيير الوظائف الخلوية مثل التعبير الجيني [17]. وما يثير الاهتمام، أن حالة الخلية يمكن أن تؤثر أيضاً على خاصية نقل الإشارات تلك للمصفوفة خارج الخلية؛ فعلى سبيل المثال يمكن لتعديل مستقبلات الإنتجرين بواسطة الأحداث داخل الخلية أن يُغيّر من انجذابها للجائن المصفوفة خارج الخلية (ECM)، والذي بدوره يُعدّل المزيد من نقل الإشارات داخل الخلية. يسمح هذا التفاعل الديناميكي بضبط دقيق ومذهل للنشاط الخلوي استجابةً للتغيرات حتى وإن كانت صغيرة في تركيب المصفوفة خارج الخلية (ECM). كما توفر المصفوفة خارج الخلية (ECM) الدعم لالتصاق الأغشية القاعدية في الجسم الحي وفي طبقات الركائز في مزارع الخلايا: ويمارس هذا التفاعل أيضاً التحكم بالشكل الخلوي [12]. بالتالي وباختصار، على الرغم من أن بعض مُركّبات المصفوفة خارج الخلية (ECM) مصممة لوظيفة معينة مثل المتانة (الوتر tendon) أو الترشيح (filtration) (الغشاء القاعدي في الكُبيبة الكلوية (kidney glomerulus)) أو الالتصاق (الغشاء القاعدي الذي يدعم معظم الظّهائر epithelia)، إلا أنها أكثر انخراطاً عموماً في:

- ١- تأسيس البيئة المايكروية / النانوية للأنسجة
- ٢- الدعم الميكانيكي والبنيوي
- ٣- تحديد شكل الخلية وقطبية الخلية
- ٤- احتجاز وتخزين وتقديم الجزيئات التنظيمية القابلة للذوبان
- ٥- نقل الإشارات الكيميائية الحيوية في الخارج
- ٦- تنظيم وظيفة الخلايا بما في ذلك: التكاثر والنمو والبقاء على قيد الحياة والتنقل والتمايز

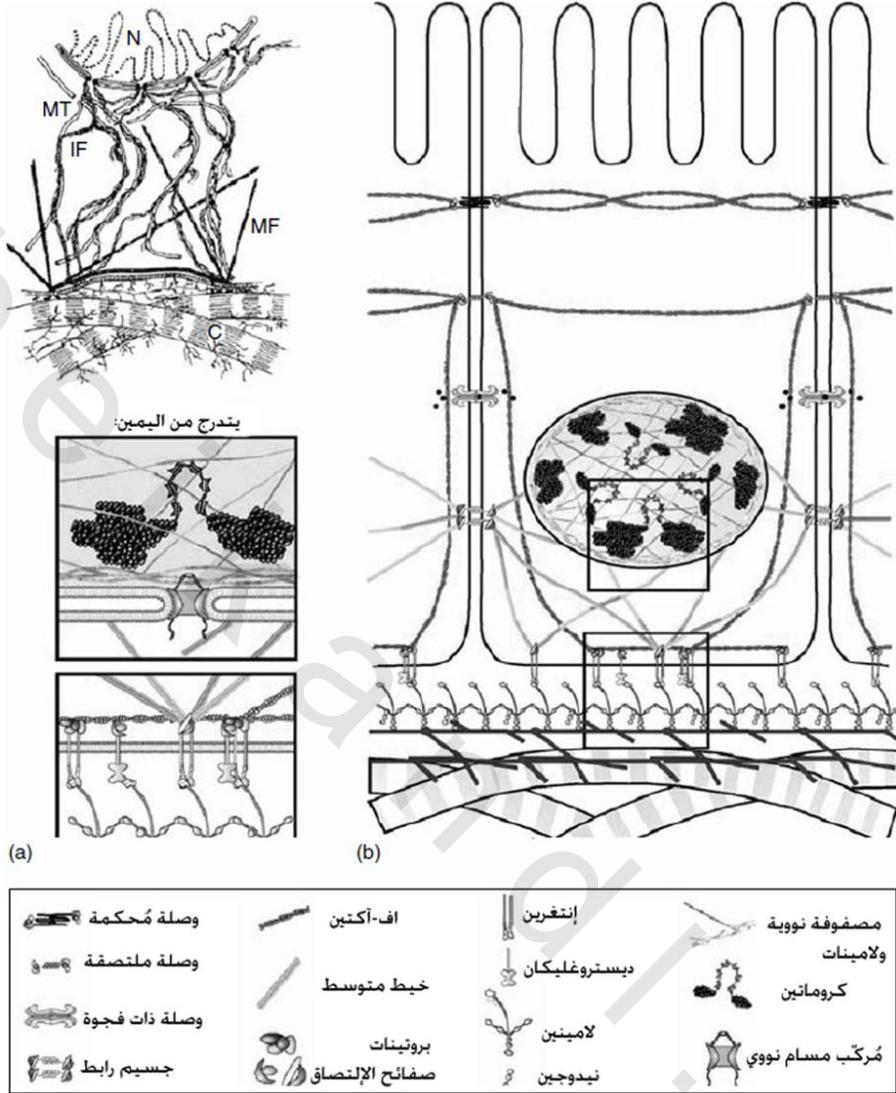
تعيد المصفوفة خارج الخلية (ECM) تشكيل نفسها بشكل مستمر (حتى داخل نسيج مفرد) طوال العمليات الطبيعية مثل التطور والشيخوخة وكذلك أثناء ترميم الجروح وتطور المرض. وتحدث عملية إعادة التشكيل نتيجة التعرض لمؤثرات مختلفة مثل عوامل النمو والسيتوكينات (cytokines) والبروتينات الوظيفية القوية والهرمونات [25,72,73]. وعلى أي حال يختلف مدى إعادة تشكيل المصفوفة خارج الخلية (ECM) إلى حد بعيد في العمليات العادية مقارنةً مع الحالات المرضية مثل السرطان (cancer). ففي حين أن الأولى مُنظمة، تكون الأخيرة غير متوازنة. على سبيل المثال، تحدث تجزئة واسعة لجزيئات المصفوفة خارج الخلية (ECM) في سدَى الورم (tumor stroma) بسبب إنزيمات البروتيناز الفلزّية بالمصفوفة

(matrix metalloproteases - MMPs)، وغيرها من إنزيمات البروتياز (proteases) وإنزيمات الهالورونيداز (hyaluronidases). وغالباً ما تمتلك هذه الأجزاء نشاطاً بيولوجياً غير موجود في المكوّن السليم للمصفوفة خارج الخلية والذي على سبيل المثال يشجع التنقل والتكاثر [34,38,74,75]. وفي المقابل فإن عمليات التحرك الموجه للخلايا والتي تظهر أثناء تحلّق غدة الثدي تشمل أحداثاً حالة للبروتين (proteolytic events) محددة الموقع بشكل عالٍ ومنظمة على نحو محكم ومرتبطة فقط بانخفاضات عابرة في الموصلات (junctions) (نقاط الاتصال) المحكّمة بين الخلايا المجاورة والتي تسمح بحرق عدد محدد من الخلايا عبر الغشاء القاعدي [74,76,77]. ومع ذلك، تشابه مظاهر إعادة تشكيل المصفوفة خارج الخلية (ECM) في ترميم الجروح مع تلك التي تحدث أثناء تطور الورم، وربما ليس من المستغرب أن الخلايا السرطانية تنمو بسرعة أكبر في بيئة الجرح منها في الأنسجة الاستتبابية أو المتوازنة (homeostatic tissue). تعتبر طريقة زراعة الخلايا في بيئات حيوية محاكية (biomimetic environments) من أجل استعادة المنبهات الموجودة في الجسم الحي إحدى الطرق التي لاقت بعض النجاح في فك رموز الآليات التي بواسطتها تمارس عملية إعادة تشكيل المصفوفة خارج الخلية (ECM) مثل تلك الوظائف المتنوعة والآليات التي هي على وجه الخصوص مشتركة بين الجرح والورم [67,78,79].

#### (٢،٤،١) تفاعلات خلية-مصفوفة خارج الخلية CELL-EXTRACELLULAR MATRIX INTERACTIONS

يشمل تفاعل خلية - مصفوفة خارج الخلية العمليات المعقدة المحددة إلى الآن والتي تتطلب تعرّفًا مبدئيًا وتؤدي إلى الالتصاق ونقل الإشارات وإعادة التنظيم الهيكلي الخلوي (cytoskeletal reorganization) والتعبير الجيني. وتكون لجائن المصفوفة خارج الخلية (ECM ligands) التي تتفاعل معها الخلايا بشكل عام مُثبّته وليست في المحلول بينما كان التركيز سابقاً على دور اللجائن القابلة للذوبان مثل الهرمونات وعوامل النمو. فعلى سبيل المثال، تربط المصفوفة خارج الخلية (ECM) وتثبت عددًا من عوامل النمو والمستفعلات (effectors) (المستجيبات) القابلة للذوبان مثل عامل النمو المحوّل-بيتا (transforming growth factor- $\beta$ ) وعامل نمو الخلايا البطانية الوعائية (vascular - endothelial - cell growth factor - VEGF) وعامل نمو الخلايا الكبدية (TGF $\beta$ ) (hepatocyte growth factor - HGF) [80,81]. وحيث إن المصفوفة خارج الخلية (ECM) تشجع أيضًا التصاقات الخلية، والتي تمثل نقاط الفحص لتنظيم شكل الخلية والتعبير الجيني من خلال ارتباطها مع هيكل الخلية ومسارات نقل الإشارات الخلوية، فهي في الواقع تربط عامل النمو والمستجيبات الأخرى مع عملية نقل الإشارات بطريقة تعتمد على البنية الهندسية للخلية. ويدمج هذا التّقارُن العوامل القابلة للذوبان وغير القابلة للذوبان ليسمح بتدفق مُتبادل (reciprocal flow) للإشارات الميكانيكية والكيميائية الحيوية بين الخلية والبيئة المايكروية (الشكل رقم ٢.٣) [17].

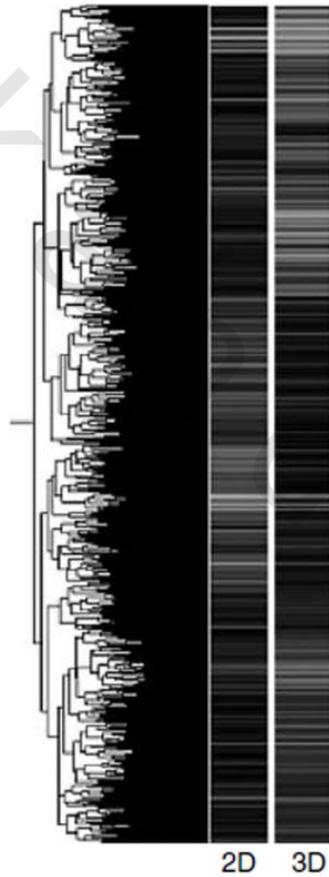
وقد تم عرض التدفقات المتبادلة (reciprocal flows) بين الظهارة (epithelium) واللّحمة المتوسّطة (mesenchyme) للعديد من الأعضاء مثل الرئة والكلية وغدة البروستات والغدد اللعابية والغدد الثديية (معروضة في [82-86]). كما تم عرض تدفق مثل هذه المعلومات المتبادلة التي تحدث بين أنواع الخلايا والأنسجة غير المتجانسة، على سبيل المثال يبدو أن الظهارة واللّحمة المتوسّطة للعديد من الأعضاء، مثل الرئة والكلية وغدة البروستات والغدد اللعابية والغدد الثديية (معروضة في [82-86])، بحاجة لتأسيس وتعزيز البنية الهندسية المتفرعة لهذه الأعضاء؛ إن الآليات التي يحدث من خلالها هذا الأمر ليست مفهومة بشكل كامل ولكن العديد من المبادئ الجزئية آخذة في الظهور.



الشكل رقم (٢,٣). (a) النموذج الأصلي للتبادلية الديناميكية (dynamic reciprocity)، أو الوحدة المطلوبة كحد أدنى للوظائف المحددة للأنسجة. (N) نواة (nucleus)؛ (MT) أنابيب (microtubules)؛ (IF) خيوط مُتوسطة (intermediate filaments)؛ (MF) خيوط مايكروية (microfilaments)؛ (C) كولاجين. (b) عرض أكثر اكتمالاً للتبادلية الديناميكية. (مُعَدلة من (Nelson, C.M. and Bissell, M.J., *Ann. Rev. Cell Develop. Biol.*, 22, 287, 2006).

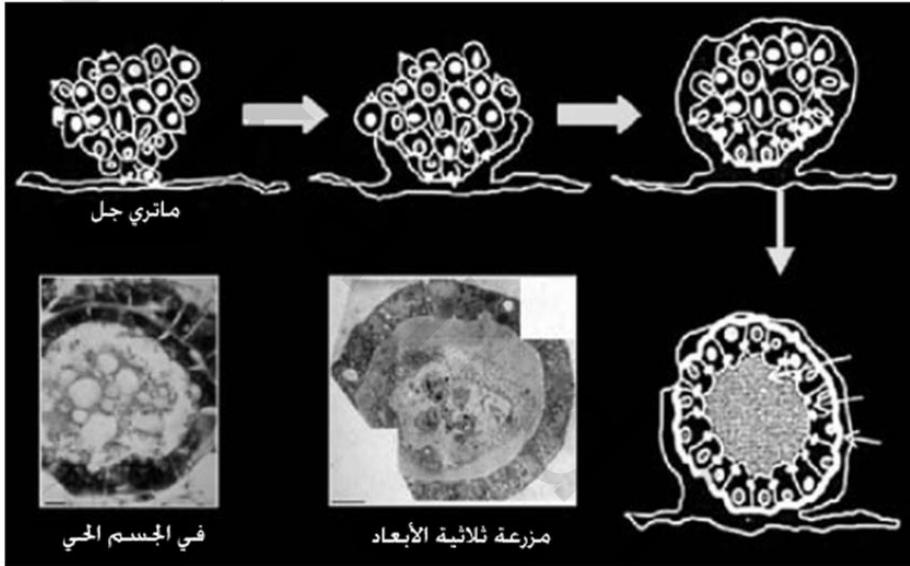
يمكن لتفاعل خلية - مصفوفة خارج الخلية (Cell - ECM interaction) إما تشجيع وإما تثبيط عملية التمايز (differentiation process). على سبيل المثال، يبدو أن للفيبرونيكتين واللامينين أدواراً متعارضة على الأقل في غدة الثدي. ففي حين أن اللامينين يكون مطلوباً لتشكيل العُنَيَات (acinus) وللقيام بوظيفتها الطبيعية، فقد ظهر بأن الفيبرونيكتين يكون مساهماً في خَبَاة الثدي (mammary malignancy) [87]. وعلى وجه الخصوص تعتبر الأنماط المتغيرة للتعبير الجيني من

خلال سلسلة من الآليات المثبطة لردود الفعل والمعالجة الانتقائية واحدة من التأثيرات الوظيفية الأخرى للمصفوفة خارج الخلية على الخلايا [4]. وقد أصبح من المؤكد وبشكل جيد أن المصفوفة خارج الخلية (ECM) تتصل بالنوى (nuclei) أو الكروماتين فيزيائياً وكيميائياً حيويًا [88,89] ؛ وهذا يؤدي إلى تأثير عميق على تفعيل عامل النسخ (transcription factor) وإعادة تشكيل الكروماتين. يوضح الشكل رقم (٢.٤) مثالاً عن مثل هذه التأثير للمصفوفة خارج الخلية على أشكال التعبير الجيني للخلايا المزروعة. وكما هو مبين في الشكل، تُعبّر الخلايا النامية على (IrECM) ثلاثي الأبعاد عن أنماط مختلفة من الجينات مقارنة مع نظرائها المزروعة بشكل ثنائي الأبعاد والنامية على ركائز صلبة من البلاستيك. وتشير البيانات إلى أن سياق البيئة المايكروية يمكن أن يكون له آثار عميقة على أنماط التعبير الجيني.



الشكل رقم (٢, ٤). تحليل التعبير الجيني (gene expression analysis) للخلايا الظهارية الثديية البشرية الحميدة (غير الخبيثة) (nonmalignant human mammary epithelial cells S1) المزروعة على البلاستيك (ثنائي الأبعاد) أو على الـ (IrECM) (ثلاثي الأبعاد). كشفت مجسات (probes) الـ (1873 Affymetrix) نسخاً (transcripts) كانت مُتعبّرة بشكلٍ تفريقي (القطع (cutoff)  $\leq$  ١,٥ ضعفاً). (من (Kenny, P., PhD Thesis).

وهناك تأثير إضافي للمصفوفة خارج الخلية وهو على مورفولوجيا أو شكل الخلايا. تتخذ الخلايا مورفولوجيا مختلفة عندما تنمو في الـ (IrECM) ثلاثي الأبعاد. فتشكل الخلايا الظهارية المنطّمة (embedded) ضمن الـ (IrECM) المرنة وبوجود المنبهات المحفّزة للإلبان (lactogenic cues) (مثل الهرمونات) بنى عُنيّية (acinar structures) مستقطبة ثلاثية الأبعاد تقوم باستعادة النمط الظاهري السنّخي (alveolar phenotype) في الجسم الحي (الشكل رقم ٢.٥) [90-93]؛ وبعد ٤ أيام تخضع الخلايا للموت المبرمج لتكوين لُمة مركزية مجوفة (central hollow lumina)، والتي فيها يمكن أن تُفرز بروتينات الحليب [64,93-96]. وعلى أي حال، لا يحدث هذا عندما تُزرع نفس الخلايا الظهارية على ركائز ثنائية الأبعاد من البلاستيك؛ بل تنتشر كطبقة أحادية ولا يمكن أن تنتج الحليب حتى في وجود الهرمونات المحفّزة للإلبان (lactogenic hormones) في وسط التغذية.



الشكل رقم (٢,٥). تشكيل نموذج عُنيّيات الفأر (mouse acini) في مزرعة خلايا (cell culture) على مصفوفة خارج الخلية غنية ببروتين

اللامينين (laminin - rich ECM). ويمكن ملاحظة أوجه الشبه بين العُنَيّيات في الجسم الحي وفي مزرعة الخلايا ثلاثية

الأبعاد. (مُعدّلة من Streuli, C.H. and Bissell, M.J., *Regulatory Mechanisms in Breast Cancer*, Kluwer Academic Publishers, Boston, 1991; Barcellos-Hoff, M.H. and Bissell, M.J., *Autocrine and Paracrine Mechanisms in Reproductive Endocrinology*, Plenum Press, New York, 1989).

تلعب المصفوفة خارج الخلية (ECM) أدوراً حاسمة في مسارات عامل النمو (growth factor pathways) ومسارات الالتصاق (adhesion pathways). ففي حين تتخاطب كلٌّ من مسارات عامل النمو ومسارات الالتصاق مع بعضها بعضاً في البيئة ثلاثية الأبعاد، أي أن تثبيط أحد مسارات نقل الإشارة (signaling pathways) يؤدي إلى تعطيل تعديل المسار الآخر [97,98]، فإنها تعمل بشكلٍ مستقلٍ في البيئة ثنائية الأبعاد (الجدول ٢.١).

الجدول رقم (١, ٢). التعديل الهجين لبروتين  $(\beta_1)$  وبروتين (EGFR).

	3D			2D		
	S1	T4-2	T4-2	T4-2	T4-2 "treated"	
كباح مُضاف	-	-	كباح الإنتغرين بيتا-1	كباح الـ EGFR	كباح الإنتغرين بيتا-1	كباح الـ EGFR
إنتغرين بيتا-1 (مستويات كلية)	+	+++	+	+	+++	+++
EGFR (مستويات كلية)	+	++++	+	+	++++	++++
EGFR (نشطة)	+	++++	+	+	++++	+

المصدر: مُعدّل من Bissell M.J., et al., *Cancer Res.*, 59, 1757s, 1999.

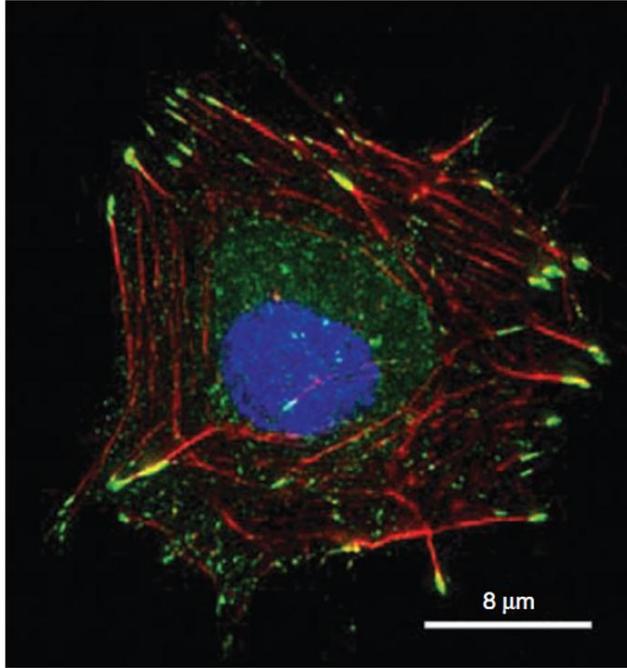
عندما تُعالج خلايا (T4-2) في بيئة ثلاثية الأبعاد مع مثبطات وظيفية (functional inhibitors) إما من الإنتغرين  $(\beta_1)$  وإما الـ (EGFR) (خلايا T4-2 المعالجة) لعودة الخلايا، يتم تعطيل تعديل مستويات بروتينات الـ  $(\beta_1)$  والـ (EGFR) داخلية المنشأ بشكلٍ متناسق. وأخيراً، وكيئة اتصال متعددة التكافؤ، يمكن للمصفوفة خارج الخلية أن تؤثر على تَعَقُد (clustering) (تجمع) عوامل النمو ويمكن أن تُعدّل الإشارات [90,100].

## (٢,٥) تفاعل الخلايا - المواد الحيوية: العناصر الرئيسية CELL-BIOMATERIALS INTERACTION: THE CENTRAL PLAYERS

### (٢,٥,١) الالتصاق Adhesion

إن التصاق الخلية بالمصفوفة خارج الخلية (ECM) والخلايا الأخرى والمواد الحيوية [7] (على سبيل المثال، حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من الهلام المائي [101-103]) هي عملية معقدة ومنظمة. ولا يمكن لعملية التصاق وانتشار الخلايا على / أو ضمن المواد الحيوية الصلبة أن تُدرس دون النظر إلى المعدل السريع لامتزاز البروتين (protein adsorption) على سطوح المواد الحيوية [104-106]. بشكلٍ عام، تتفاعل الخلايا المبدورة من أوساط تغذية تحتوي على المصل (serum) على الأرجح أكثر مع طبقة مُمتزة من البروتين مما هي عليه مع السطح الفعلي للمادة الحيوية. إذا كانت الخصائص الفيزيائية الكيميائية لحاملات الخلايا والأنسجة والبروتينات وغيرها من الأجزاء المترسبة التي تشكل المصفوفة خارج الخلية (ECM) الاصطناعية مناسبة، فإن الخلايا تلتصق وتعمل بشكلٍ صحيح. وإن لم تكن الخصائص كذلك، فتبقى الخلايا أساساً كروية، مُظهرةً التصاقاً ضئيلاً أو معدوماً على السطح. ويتجلى هذا السلوك من خلال الالتصاق الانتقائي لبروتينات محددة من المصفوفة خارج الخلية (ECM) على مناطق سطوح المواد الحيوية عبر عدة تقنيات [107-110]. على سبيل المثال، عندما تعرضت خلايا البلاعم (macrophage cells) لسطوح تم تعديلها بشكلٍ مُتغير (heterogeneously) مع جزيئات لاصقة من المصفوفة خارج الخلية (ECM) مقابل خَلْفِيَّة (background) من مادة بولي غليكول الإيثيلين (poly(ethylene glycol) - PEG) غير مُجمَع عليها أي مادة (خاملة بيولوجياً)، التصقت الخلايا بشكلٍ انتقائي فوق بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) وعملت بشكلٍ صحيح لفترة طويلة [111].

عندما تلامس خلية سطحًا لاصقًا صلبًا يحدث الالتصاق من خلال لويحات التصاق (adhesion plaques) أو مواقع معينة تُعرف باسم الالتصاقات البؤرية [112-114]. ويتأثر تشكيل مواقع الالتصاق هذه بشدة بأنواع البروتينات الموجودة على السطح الذي ترتبط به الخلايا. وعندما ترتبط الخلية يجري تسلسل معين من الأحداث التي تعتمد على طبيعة مستقبلات سطح الخلية/تفاعل المصفوفة خارج الخلية. على سبيل المثال، ترتبط مستقبلات الإنتغرين أولاً (بوجود منطقة مصممة لحوالي  $25\text{mm}^2$  من المثني المغاير الغير مُتعقد nonclustered heterodimer) ببروتينات المصفوفة خارج الخلية المغلفة على السطح [115]. ثم تتراكم بعد ذلك مجموعة من البروتينات داخل الخلايا (intracellular) المهية لهيكل الخلية (تالين (talin)، فينكولين (vinculin)، باكسيلين (paxillin)، ألفا-أكتينين ( $\alpha$ -actinin)) وبأبعاد في مجال النانومتر ضمن لويحة تشكيل الالتصاق التي تربط الإنتغرينات بهيكل الخلية الأكتيني (actin cytoskeleton). وهذا يؤدي إلى ارتباط وظيفي لهيكل الخلية الخلوي (cellular cytoskeleton) مع السطوح الصلبة (الشكل رقم ٢.٦).



الشكل رقم (٢،٦). صورة مؤلقة (fluorescence image) للخلايا البطانية الوريدية البشرية للجلل السري (human umbilical cord vein endothelial cells - HUVECs) المنتصقة على سطح زجاجي ثنائي الأبعاد بوجود بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) والبروتيوغليكانات (proteoglycans). ترتبط خيوط الأكتين (actin filaments) (الحمراء) والإنتغرينات (integrins) من خلال بروتينات الفينكولين (vinculin proteins) (الخضراء). الأزرق: نواة - DAPI (nucleus - DAPI)، الأخضر: مضاد الفينكولين - FITC (antivinculin - FITC)، الأحمر: أليكسا فلور ٥٩٤ فلووريدين - إف - أكتين (Alexa Fluor 594 phalloidin - F - actin). (من: Veisoh, M. عرض غير منشور).

يمكن للهيكل الخلوي للخلية الارتباط مع المصفوفة خارج الخلية (ECM) من خلال تفاعل مصفوفة خارج الخلية / إنتغرين مفرد أو متعدد التكافؤ. ويُعد الأخير أكثر استقراراً وهو يوجد عادةً في لويحات الالتصاق. كل اللويحات اللاصقة في مستوى خلية / خلية وخلية / مصفوفة خارج الخلية وخلية / سطوح المواد الحيوية الصلبة هي ذات بنية نانوية. وعلى الرغم من عدم وجود كل أنواع التصاقات الخلايا بين الخلايا والمواد الحيوية، فقد تبين ما يلي عند السطح الفاصل خلية/مادة حيوية صلبة [113,116]:

١- الالتصاقات البؤرية: يتباعد من ١٠ إلى ١٥ نانومتراً بين الغشاء الشحمي (lipid membrane) والمادة الحيوية الصلبة (solid biomaterial)

٢- اتصالات وثيقة (غالباً حول الالتصاقات البؤرية): يتباعد من ٣٠ إلى ٥٠ نانومتراً بين سطح الخلية والمادة الحيوية الصلبة

٣- اتصالات المصفوفة خارج الخلية (ECM): يتباعد من ٥٠ إلى ١٠٠ نانومتر بين جدار الخلية البطني (ventral cell wall) والمادة الحيوية الصلبة الباطنة مع اتصال فُرَادِيَّ (sporadic connection) بالمكونات الخيطية للمصفوفة خارج الخلية (filamentous ECM components)

إن كلاً من الأحجام النانومترية للإنغرينات والبروتينات المشاركة بالالتصاق البؤري والبنى العنقودية الناتجة والمشمولة في عملية الالتصاق تشير معاً إلى ضرورة دمج وتحليل البنى اللاصقة بتباينات (بميز) (resolutions) في المجال النانوي (أو المجال الجزيئي) في تصاميم هندسة الأنسجة.

### (٢, ٥, ٢) نقل إشارات فائقة لأنماط فائقة Ultra-Signaling to Ultra-Patterns

إلى جانب الاستجابة للتفاعلات الكيميائية متعددة التكافؤات (multivalent chemical interactions)، تستجيب الخلايا أيضاً لأنماط مكانية ولدورية بنيوية (structural periodicity) محددة للمصفوفة خارج الخلية (ECM) في كلٍّ من المستوى المايكروبي والنانوي. وتعتمد كلٌّ من المسافات المكانية لتكرار البنى وتنظيمها في تراتيب أعلى على تركيب المصفوفة خارج الخلية (ECM) [4,117]. ويشير العديد من خطوط الأدلة إلى أن الخلايا تُجسِّس وتنقل الإشارة استجابةً لتكرار البنى النانوية والأبعاد الهندسية.

وقد حدد Vogel وآخرون [118] "إستشعار الأشكال الهندسية (geometry sensing) وتشكيل مُركَّبات نقل الإشارات (signaling complexes) عن طريق التبدلات في حيز مواضع التعرف الجزيئي (molecular recognition sites)" وقد أظهر Yim وآخرون بأن التمايز العصبوني (neuronal differentiation) للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) قد تأثر بشدة بالطوبوغرافيا (السمات السطحية) النانوية (nanotopography) [119]. وعندما دمج Semino وآخرون ألياف النانو المحبوكة أو المنسوجة (weaved nanofibers) بالتجميع الذاتي للبتيدات (self-assembling peptides) في شبكة ذات بنية مناسبة تماماً للإطلاق البطيء للمواد الغذائية والجزيئات البيولوجية الأساسية لغرس الخلايا الجذعية الكبدية، لاحظوا بأن الخلايا الجذعية

قد تجددت ذاتياً وتمايزت على حدٍ سواء إلى خلايا كبدية ناضجة [120]. ولم يتم التعرف بعد على الآليات الجزيئية (molecular mechanisms) وراء هذه الملاحظات، ولكن تحديدها سوف يُوضَّح بالتأكيد المفاهيم عن كيفية حث أنماط البيئة النانوية والمجال النانوي (nanoenvironment and nanorange patterns) لنقل إشارات الخلية (cell signaling).

## (٢,٦) الاستنتاجات CONCLUSIONS

تتطلب المحافظة على بنية ووظيفة الأنسجة تزامناً حيوياً لتتاليات نقل الإشارات (signaling cascades) لبقاء ونمو وتمايز الخلايا مع منبهات الخلية - المصفوفة خارج الخلية (ECM). إن الخلايا تستجيب بشكل عميق للأنماط التراتبية الهرمية (hierarchical patterns) والخصائص الفيزيائية الكيميائية (physicochemical properties) للبيئة المحيطة بها. ففي حين تم كشف وفهم الكثير حول بنية ووظائف المصفوفة خارج الخلية (ECM) في المجال المايكرومي (micron - scale) إلا أننا نعتقد بأنه من الضروري أن يتم تحديد خريطة طريق جديدة لنقل الإشارات ضمن المستوى الفيزيولوجي الفعلي، أي ضمن المجال النانومتري (nanometric scale).

## (٢,٧) التوجه المستقبلي FUTURE DIRECTION

وصلت الأدوات التكنولوجية (technological tools) لإظهار البنى البيولوجية إلى المستوى الذي يمكن أن يسمح بضبط دقيق لتحليل تركيب المصفوفة خارج الخلية (ECM) وبنائها النانوية وربما حتى نقل الإشارات الديناميكي في مجال النانو (nanoscale dynamic signaling). وسيساعد المزيد من الاقتراب من بيولوجيا الخلية في تركيب مصفوفة خارج خلية أصلية (native ECM) وفهم أحداث إعادة التشكيل (remodeling events). إن الوصف الدقيق للمصفوفات خارج الخلية المحاكية حيوياً (biomimetic ECMs) في المستوى النانوي وتفاعلاتها في الزمن الحقيقي (أي التصوير الديناميكي (dynamic imaging) للخلايا المفردة ومكونات المصفوفة خارج الخلية ضمن البيئات ثلاثية الأبعاد) لا بد منه.

## شكر وتقدير ACKNOWLEDGMENTS

نشكر الدكتور Ren Xu و Jamie L. Inman للقراءة النقدية والاقتراحات المفيدة على النسخة الأولية المطبوعة، والدكتور Richard Schwarz والدكتور Paraic A. Kenny من أجل الجزء الخاص بالكولاجين والشكل رقم (٢,٤)، على التوالي. لقد تم دعم هذه البحوث من خلال المنح وجائزة الزمالة الجامعية المتميزة المقدمة قبل من وزارة الطاقة الأميركية (U.S. Department of Energy)، مكتب البحوث البيولوجية والبيئية (Office of Biological and Environmental Research) (DE - AC03 SF0098) ومن قبل وزارة الدفاع (Department of Defense) وبرنامج بحوث سرطان الثدي (Breast Cancer Research Program) (W81XWH0510338) لـ M.J. Bissell ومن قبل جائزة مبتكر من وزارة الدفاع،

برنامج بحوث سرطان الثدي (DAMD170210438) لـ M.J. Bissell ومن قبل المعهد الوطني للسرطان (National Cancer Institute) (Institute of Cancer Research) (CA64736 to M.J. Bissell, CA57621 to Zenawerb and M.J. Bissell). إن E.A. Turley و M.J. Bissell هما أيضاً حاصلان على منحة وزارة الدفاع لبرنامج بحوث سرطان الثدي (BC044087). وقد تم دعم E.A. Turley من قبل الجمعية الكندية لسرطان الثدي (Breast Cancer Society of Canada).

## المراجع REFERENCES

- [1] Badylak, S.E. 2002. The extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 13(5): 377–383. <Go to ISI>://000178731800008.
- [2] Kalluri, R. 2003. Basement Membranes: Structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nature Reviews Cancer* 3(6): 422–433. <Go to ISI>://000183424100015.
- [3] Gilbert, S.F. 2006. *Developmental Biology*. Eighth edition, Chapter 6. Sinauer Associates, Inc., USA.
- [4] Bissell, M.J., H.G. Hall, and G. Parry. 1982. How does the extracellular matrix direct gene expression? *Journal of Theoretical Biology* 99: 31–68.
- [5] Langer, R. and J. Vacanti. 1993. Tissue engineering. *Science* 260: 920–926.
- [6] Murugan, R. and S. Ramakrishna. 2007. Design strategies of tissue engineering scaffolds with controlled fiber orientation. *Tissue Engineering* 13(8): 1845–1866. <Go to ISI>://000248742200006.
- [7] Ratner, B.D. and S.J. Bryant. 2004. Biomaterials: Where we have been and where we are going. *Annual Review of Biomedical Engineering* 6: 41–75. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=15255762](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15255762).
- [8] Bissell, D.M., L.E. Hammaker, and U.A. Meyer. 1973. Parenchymal cells from adult rat-liver in nonproliferating monolayer culture. 1. Functional studies. *Journal of Cell Biology* 59(3): 722–734. <Go to ISI>://A1973R469000016.
- [9] Bissell, M.J. 1981. The differentiated state of normal and malignant cells or how to define a “normal” cell in culture. *International Review of Cytology* 70: 27–100. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=7228573](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7228573).
- [10] Bissell, M.J., A. Rizki, and I.S. Mian. 2003. Tissue architecture: The ultimate regulator of breast epithelial function-commentary. *Current Opinion in Cell Biology* 15(6): 753–762. <Go to ISI>://000187109200016.
- [11] Pampaloni, F., E.G. Reynaud, and E.H. Stelzer. 2007. The third dimension bridges the gap between cell culture and live tissue. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=17684528](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17684528).
- [12] Roskelley, C.D., P.Y. Desprez, and M.J. Bissell. 1994. Extracellular matrix-dependent tissue-specific gene-expression in mammary epithelial-cells requires both physical and biochemical signal-transduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91(26): 12378–12382. <Go to ISI>://A1994PY29400006.
- [13] Bissell, M.J., D.C. Radisky, A. Rizki, V.M. Weaver, and O.W. Petersen. 2002. The organizing principle: Microenvironmental influences in the normal and malignant breast. *Differentiation* 70(9–10): 537–546. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=12492495](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12492495).

- [14] Nelson, C.M. and M.J. Bissell. 2006. Of extracellular matrix, scaffolds, and signaling: Tissue architecture regulates development, homeostasis, and cancer. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 22: 287–309. <Go to ISI>://000242325100013.
- [15] Schmeichel, K.L. and M.J. Bissell. 2003. Modeling tissue-specific signaling and organ function in three dimensions. *Journal of Cell Science* 116(12): 2377–2388. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=12766184](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12766184).
- [16] Gordon, A.T., G.E. Lutz, M.L. Boninger, and R.A. Cooper. 2007. Introduction to nanotechnology: Potential applications in physical medicine and rehabilitation. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation* 86(3): 225–241. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=17314708](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17314708).
- [17] Hagios, C., A. Lochter, and M.J. Bissell. 1998. Tissue architecture: The ultimate regulator of epithelial function? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 353: 857–870.
- [18] Bissell, M.J. and M.A. LaBarge. 2005. Context, tissue plasticity, and cancer: Are tumor stem cells also regulated by the microenvironment? *Cancer Cell* 7(1): 17–23. <Go to ISI>://000226533000004.
- [19] Drife, J.O. 1986. Breast development in puberty. *Annals of the New York Academy of Sciences* 464:58–65. <Go to ISI>://A1986E223100006.
- [20] Ronnov-Jessen, L., O.W. Petersen, and M.J. Bissell. 1996. Cellular changes involved in conversion of normal to malignant breast: Importance of the stromal reaction. *Physiological Review* 76(1): 69–125. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=8592733](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8592733).
- [21] Sakakura, T., Y. Nishizuka, and C.J. Dawe. 1976. Mesenchyme-dependent morphogenesis and epithelium-specific cytodifferentiation in mouse mammary-gland. *Science* 194(4272): 1439–1441. <Go to ISI>://A1976CP27400028.
- [22] Neville, M.C., T.B. McFadden, and I. Forsyth. 2002. Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 7(1): 49–66. <Go to ISI>://000175924200005.
- [23] Talhouk, R.S., M.J. Bissell, and Z. Werb. 1992. Coordinated expression of extracellular matrix-degrading proteinases and their inhibitors regulates mammary epithelial function during involution. *Journal of Cell Biology* 118(5): 1271–1282. <Go to ISI>://A1992JL55000023.
- [24] Talhouk, R.S., J.R. Chin, E.N. Unemori, Z. Werb, and M.J. Bissell. 1991. Proteinases of the mammarygland-developmental regulation in vivo and vectorial secretion in culture. *Development* 112(2):439–449. <Go to ISI>://A1991FR42700008.
- [25] Guo, W.J. and F.G. Giancotti. 2004. Integrin signalling during tumour progression. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 5(10): 816–826. <Go to ISI>://000224558200015.
- [26] Schoen, F.J. and R.N. Mitchell. 2004. Tissues, the extracellular matrix, and cell-biomaterial interactions. In *Biomaterials Sciences: An Introduction to Materials in Medicine*, B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen and J.E. Lemons (Eds.), pp. 260–272: Elsevier Academic Publishers.
- [27] Adams, J.C. and F.M. Watt. 1993. Regulation of development and differentiation by the extracellularmatrix. *Development* 117(4): 1183–1198. <Go to ISI>://A1993LD08900001.
- [28] Keding, M., P.M. Simon, J.F. Grenier, and K. Haffen. 1981. Role of epithelial–mesenchymal interactions in the ontogenesis of intestinal brush-border enzymes. *Developmental Biology* 86(2): 339–347. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=6793427](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6793427).
- [29] Ratner, B.D., A.S. Hoffman, F.J. Schoen, and J.E. Lemons (Eds.). 2004. *Biomaterials Sciences: An Introduction to Materials in Medicine*, Second edition, Chapter 3. Elsevier Academic Publishers, USA.
- [30] McDonald, J.A. and T.D. Camenisch. 2002. Hyaluronan: Genetic insights into the complex biology of a simple polysaccharide. *Glycoconjugate Journal* 19(4–5): 331–339. Abstract available at

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=12975613](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12975613).

- [31] Stern, R. and M.J. Jdrzejewski. 2006. Hyaluronidases: Their genomics, structures, and mechanisms of action. *Chemical Reviews* 106(3): 818–839. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=16522010](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16522010).
- [32] Weigel, P.H. 2002. Functional characteristics and catalytic mechanisms of the bacterial hyaluronan synthases. *IUBMB Life* 54(4): 201–211. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=12512859](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12512859).
- [33] Allison, D.D. and K.J. Grande-Allen. 2006. Review. Hyaluronan: A powerful tissue engineering tool. *Tissue Engineering* 12(8): 2131–2140. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=16968154](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16968154).
- [34] Toole, B.P. 2004. Hyaluronan: From extracellular glue to pericellular Cue. *Nature Reviews Cancer* 4(7): 528–539. <Go to ISI>://000222435500013.
- [35] Adamia, S., C.A. Maxwell, and L.M. Pilarski. 2005. Hyaluronan and hyaluronan synthases: Potential therapeutic targets in cancer. *Current Drug Targets. Cardiovascular & Haematological Disorders* 5(1): 3–14. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=15720220](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15720220).
- [36] Bartolazzi, A., R. Peach, A. Aruffo, and I. Stamenkovic. 1994. Interaction between Cd44 and hyaluronate is directly implicated in the regulation of tumor development. *The Journal of Experimental Medicine* 180(1): 53–66. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=7516417](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7516417).
- [37] Evanko, S.P., M.I. Tammi, R.H. Tammi, and T.N. Wight. 2007. Hyaluronan-dependent pericellular matrix. *Advanced Drug Delivery Reviews* 59(13): 1351–1365. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=17804111](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17804111).
- [38] Tammi, M.I., A.J. Day, and E.A. Turley. 2002. Hyaluronan and homeostasis: A balancing act. *The Journal of Biological Chemistry* 277(7): 4581–4584. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=11717316](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11717316).
- [39] Hamilton, S.R., S.F. Fard, F.F. Paiwand, et al. 2007. The hyaluronan receptors Cd44 and Rhamm (Cd168) form complexes with Erk1,2 that sustain high basal motility in breast cancer cells. *The Journal of Biological Chemistry* 282(22): 16667–16680. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=17392272](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17392272).
- [40] Bono, P., K. Rubin, J.M. Higgins, and R.O. Hynes. 2001. Layilin, a novel integral membrane protein, is a hyaluronan receptor. *Molecular Biology of Cell* 12(4): 891–900. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=11294894](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11294894).
- [41] Jiang, D., J. Liang, and P.W. Noble. 2006. Hyaluronan in tissue injury and repair. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=17506690](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17506690).
- [42] Turley, E.A., P.W. Noble, and L.Y. Bourguignon. 2002. Signaling properties of hyaluronan receptors. *The Journal of Biological Chemistry* 277(7): 4589–4592. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=11717317](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11717317).
- [43] Griffith, L.G. and M.A. Swartz. 2006. Capturing complex 3D tissue physiology in vitro. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 7(3): 211–224. <Go to ISI>://000235590500016.
- [44] Prockop, D.J. 1995. Collagens: Molecular biology, diseases, and potentials for therapy. *Ann. Rev. Biochem* 64: 403–434.

- [45] Wess, T.J. 2005. Collagen fibril form and function. *Advances in Protein Chemistry* 70: 341–374. <Go to ISI>://000229968800010.
- [46] Hulmes, D.J. 1992. The collagen superfamily—diverse structures and assemblies. *Essays in Biochemistry* 27: 49–67. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=1425603](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1425603).
- [47] Gutschmann, T., G.E. Fantner, J.H. Kindt, et al. 2004. Force spectroscopy of collagen fibers to investigate their mechanical properties and structural organization. *Biophysical Journal* 86(5): 3186–3193. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=15111431](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15111431).
- [48] Sasaki, T., K. Mann, H. Wiedemann, et al. 1997. Dimer model for the microfibrillar protein fibulin-2 and identification of the connecting disulfide bridge. *The EMBO Journal* 16(11): 3035–3043. <Go to ISI>://A1997XE74800007.
- [49] Erickson, H.P. and N.A. Carrell. 1983. Fibronectin in extended and compact conformations—electronmicroscopy and sedimentation analysis. *Journal of Biological Chemistry* 258(23): 4539–4544. <Go to ISI>://A1983RT93700079.
- [50] Johnson, K.J., H. Sage, G. Briscoe, and H.P. Erickson. 1999. The compact conformation of fibronectin is determined by intramolecular ionic interactions. *Journal of Biological Chemistry* 274(22): 15473–15479. <Go to ISI>://000080560100027.
- [51] Hynes, R.O. (Ed.). 1989. *Fibronectins*. Edited by A. Rich. New York: Springer-Verlag.
- [52] Williams, E.C., P.A. Janmey, J.D. Ferry, and D.F. Mosher. 1982. Conformational states of fibronectin. *The Journal of Biological Chemistry* 257(24): 14973–14978.
- [53] Potts, J.R. and I.D. Campbell. 1996. Structure and function of fibronectin modules. *Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology* 15(5): 313–320; discussion 21. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=8981327](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8981327).
- [54] Bokel, C. and N.H. Brown. 2002. Integrins in development: Moving on, responding to, and sticking to the extracellular matrix. *Developmental Cell* 3(3): 311–321. <Go to ISI>://000178132800006.
- [55] Hynes, R.O. 1992. Integrins: Versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 69: 11–25.
- [56] Pasqualini, R., E. Koivunen, and E. Ruoslahti. 1996. Peptides in cell adhesion: Powerful tools for the study of integrin-ligand interactions. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 29(9): 1151–1158. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=9181058](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9181058).
- [57] Ruoslahti, E. and M.D. Pierschbacher. 1986. Arg-Gly-Asp: A versatile cell recognition signal. *Cell* 44(4): 517–518. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=2418980](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2418980).
- [58] Jonsson, U., Ivarsson, B., Lundstrom, I., Berghem, L. 1982. Adsorption behavior of fibronectin on wellcharacterized silica surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science* 90(1): 148–163.
- [59] Bruch, M., R. Landwehr, and J. Engel. 1989. Dissection of laminin by cathepsin G into its long-arm and short-arm structures and localization of regions involved in calcium dependent stabilization and selfassociation. *European Journal of Biochemistry* 185(2): 271–279. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=2511014](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2511014).
- [60] Engel, J., E. Odermatt, A. Engel, et al. 1981. Shapes, domain organizations and flexibility of laminin and fibronectin, two multifunctional proteins of the extracellular matrix. *Journal of Molecular Biology* 150(1): 97–120. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=6795355](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6795355).

- [61] Aumailley, M., L. Bruckner-Tuderman, W.G. Carter, et al. 2005. A simplified laminin nomenclature. *Matrix Biology* 24(5): 326–332. <Go to ISI>://000231205300002.
- [62] Li, S.H., D. Edgar, R. Fassler, W. Wadsworth, and P.D. Yurchenco. 2003. The role of laminin in embryonic cell polarization and tissue organization. *Developmental Cell* 4(5): 613–624. <Go to ISI>://000185787200005.
- [63] Weir, M.L., M.L. Oppizzi, M.D. Henry, et al. 2006. Dystroglycan loss disrupts polarity and beta-casein induction in mammary epithelial cells by perturbing laminin anchoring. *Journal of Cell Science* 119(19): 4047–4058. <Go to ISI>://000240630300015.
- [64] Streuli, C.H., C. Schmidhauser, N. Bailey, et al. 1995b. Laminin mediates tissue-specific gene-expression in mammary epithelia. *Journal of Cell Biology* 129(3): 591–603. <Go to ISI>://A1995QW14200004.
- [65] Beck, K., I. Hunter, and J. Engel. 1990. Structure and function of laminin—anatomy of a multidomain glycoprotein. *Faseb Journal* 4(2): 148–160. <Go to ISI>://A1990CM41800003.
- [66] Muschler, J., A. Lochter, C.D. Roskelley, P. Yurchenco, and M.J. Bissell. 1999. Division of labor among the alpha 6 beta 4 integrin, beta 1 integrins, and an e3 laminin receptor to signal morphogenesis and betacasein expression in mammary epithelial cells. *Molecular Biology of the Cell* 10(9): 2817–2828. <Go to ISI>://000082598500003.
- [67] Streuli, C.H., N. Bailey, and M.J. Bissell. 1991. Control of mammary epithelial differentiation—basementmembrane induces tissue-specific gene-expression in the absence of cell–cell interaction and morphological polarity. *Journal of Cell Biology* 115(5): 1383–1395. <Go to ISI>://A1991GT48800018.
- [68] Gudjonsson, T., L. Ronnov-Jessen, R. Villadsen, et al. 2002. Normal and tumor-derived myoepithelial cells differ in their ability to interact with luminal breast epithelial cells for polarity and basement membrane deposition. *Journal of Cell Science* 115(1): 39–50. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=11801722](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11801722).
- [69] Gudjonsson, T., M.C. Adriance, M.D. Sternlicht, O.W. Petersen, and M.J. Bissell. 2005. Myoepithelial cells: Their origin and function in breast morphogenesis and neoplasia. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 10(3): 261–272. <Go to ISI>://000238224600007.
- [70] Muschler, J., D. Levy, R. Boudreau, et al. 2002. A role for dystroglycan in epithelial polarization: Loss of function in breast tumor cells. *Cancer Research* 62(23): 7102–7109. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=12460932](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12460932).
- [71] Saunders, S., M. Jalkanen, S. O’Farrell, and M. Bernfield. 1989. Molecular cloning of syndecan, an integral membrane proteoglycan. *The Journal of Cell Biology* 108(4): 1547–1556. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=2494194](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2494194).
- [72] Labat-Robert, J. 2003. Age-dependent remodeling of connective tissue: Role of fibronectin and laminin. *Pathologie-Biologies (Paris)* 51(10): 563–568. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=14622946](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14622946).
- [73] Mott, J.D. and Z. Werb. 2004. Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. *Current Opinion in Cell Biology* 16(5): 558–564. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=15363807](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15363807).
- [74] Lochter, A., S. Galosy, J. Muschler, et al. 1997. Matrix metalloproteinase stromelysin-1 triggers a cascade of molecular alterations that leads to stable epithelial-to-mesenchymal conversion and a premalignant phenotype in mammary epithelial cells. *Journal of Cell Biology* 139(7): 1861–1872. <Go to ISI>://000071266100023.
- [75] Lochter, A., M. Navre, Z. Werb, and M.J. Bissell. 1999. Alpha1 and alpha2 integrins mediate invasive activity of mouse mammary carcinoma cells through regulation of stromelysin-1 expression. *Molecular*

- Biology of the Cell 10(2): 271–282. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=9950676](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9950676).
- [76] Fata, J.E., Z. Werb, and M.J. Bissell. 2003. Regulation of mammary gland branching morphogenesis by the extracellular matrix and its remodeling enzymes. *Breast Cancer Research* 6(1): 1–11. <Go to ISI>://000187112000006.
- [77] Simian, M., Y. Hirai, M. Navre, et al. 2001. The interplay of matrix metalloproteinases, morphogens and growth factors is necessary for branching of mammary epithelial cells. *Development* 128(16): 3117–3131. <Go to ISI>://000170825900007.
- [78] Boudreau, N., C.J. Sympson, Z. Werb, and M.J. Bissell. 1995. Suppression of ice and apoptosis in mammary epithelial-cells by extracellular-matrix. *Science* 267(5199): 891–893. <Go to ISI>://A1995QG20700060.
- [79] Hahn, U., A. Stallmach, E.G. Hahn, and E.O. Riecken. 1990. Basement membrane components are potent promoters of rat intestinal epithelial cell differentiation in vitro. *Gastroenterology* 98(2): 322–335. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=2295387](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2295387).
- [80] Paralkar, V.M., S. Vukicevic, and A.H. Reddi. 1991. Transforming growth factor beta type 1 binds to collagen IV of basement membrane matrix: Implications for development. *Developmental Biology* 143(2): 303–308. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=1991553](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1991553).
- [81] Ruhrberg, C., H. Gerhardt, M. Golding, et al. 2002. Spatially restricted patterning cues provided by heparin-binding vegf-a control blood vessel branching morphogenesis. *Genes & Development* 16(20): 2684–2698. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=12381667](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12381667).
- [82] Cardoso, W.V. 2001. Molecular regulation of lung development. *Annual Review of Physiology* 63: 471–494. <Go to ISI>://000168071900020.
- [83] Hieda, Y. and Y. Nakanishi. 1997. Epithelial morphogenesis in mouse embryonic submandibular gland: Its relationships to the tissue organization of epithelium and mesenchyme. *Development Growth & Differentiation* 39(1): 1–8. <Go to ISI>://A1997WX47100001.
- [84] Marker, P.C., A.A. Donjacour, R. Dahiya, and G.R. Cunha. 2003. Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. *Developmental Biology* 253(2): 165–174. <Go to ISI>://000180688400001.
- [85] Parmar, H. and G.R. Cunha. 2004. Epithelial–stromal interactions in the mouse and human mammary gland in vivo. *Endocrine-Related Cancer* 11(3): 437–458. <Go to ISI>://000224343000004.
- [86] Yu, J., A.P. McMahon, and M.T. Valerius. 2004. Recent genetic studies of mouse kidney development. *Current Opinion in Genetics & Development* 14(5): 550–557. <Go to ISI>://000224337700014.
- [87] Sandal, T., K. Valyi-Nagy, V.A. Spencer, et al. 2007. Epigenetic reversion of breast carcinoma phenotype is accompanied by changes in DNA sequestration as measured by AluI restriction enzyme. *American Journal of Pathology* 170(5): 1739–1749. <Go to ISI>://000246050400029.
- [88] Maniotis, A.J., C.S. Chen, and D.E. Ingber. 1997. Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94(3): 849–854. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=9023345](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9023345).
- [89] Xu, R., V.A. Spencer, and M.J. Bissell. 2007. Extracellular matrix-regulated gene expression requires cooperation of Swi/Snf and transcription factors. *Journal of Biological Chemistry* 282(20): 14992–14999.

- [90] Aggeler, J., J. Ward, L.M. Blackie, et al. 1991. Cytodifferentiation of mouse mammary epithelial cells cultured on a reconstituted basement membrane reveals striking similarities to development in vivo. *Journal of Cell Science* 99(Pt 2): 407–417. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=1885677](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1885677).
- [91] Barcellos-Hoff, M.H., J. Aggeler, T.G. Ram, and M.J. Bissell. 1989. Functional differentiation and alveolar morphogenesis of primary mammary cultures on reconstituted basement membrane. *Development* 105(2): 223–235. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=2806122](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2806122).
- [92] Emerman, J.T. and D.R. Pitelka. 1977. Maintenance and induction of morphological-differentiation in dissociated mammary epithelium on floating collagen membranes. *In vitro* 13(5): 316–328. <Go to ISI>://A1977DL36900008.
- [93] Lee, E.Y.H.P., W.H. Lee, C.S. Kaetzel, G. Parry, and M.J. Bissell. 1985. Interaction of mouse mammary epithelial-cells with collagen substrata-regulation of casein gene-expression and secretion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 82(5): 1419–1423. <Go to ISI>://A1985ADL3900028.
- [94] Lee, E.Y.H., G. Parry, and M.J. Bissell. 1984. Modulation of secreted proteins of mouse mammary epithelial-cells by the collagenous substrata. *Journal of Cell Biology* 98(1): 146–155. <Go to ISI>://A1984RX39500017.
- [95] Streuli, C.H. and M.J. Bissell. 1991. Mammary epithelial cells, extracellular matrix, and gene expression. In *Regulatory Mechanisms in Breast Cancer*, edited by M. Lippman and R. Dickson, pp. 365–381. Boston: Kluwer Academic Publishers.
- [96] Barcellos-Hoff, M.H. and Bissell M.J. 1989. A role for the extracellular matrix in autocrine and paracrine regulation of tissue-specific functions. In *Autocrine and Paracrine Mechanisms in Reproductive Endocrinology*, edited by L. Krey, B.J. Gulyas, and J.A. McCracken, pp. 137–155. New York: Plenum Press.
- [97] Bissell M.J., V.M. Weaver, S.A. Lelievre, et al. 1999. Tissue structure, nuclear organization, and gene expression in normal and malignant breast. *Cancer Research* 59(7): 1757s–1763s. <Go to ISI>://000079582000026.
- [98] Wang, F., V.M. Weaver, O.W. Petersen, et al. 1998. Reciprocal interactions between beta 1-integrin and epidermal growth factor receptor in three-dimensional basement membrane breast cultures: A different perspective in epithelial biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95(25): 14821–14826. <Go to ISI>://000077436700043.
- [99] Schwartz, M.A. and V. Baron. 1999. Interactions between mitogenic stimuli, or, a thousand and one connections. *Current Opinion in Cell Biology* 11(2): 197–202. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=10209147](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10209147).
- [100] Trusolino, L., A. Bertotti, and P.M. Comoglio. 2001. A signaling adapter function for alpha6beta4 integrin in the control of hgf-dependent invasive growth. *Cell* 107(5): 643–654. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=11733063](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11733063).
- [101] Hoffman, A.S. 2001. Hydrogels for biomedical applications. *Annals of the New York Academy of Sciences* 944: 62–73. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=11797696](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11797696).
- [102] Pratt, A.B., F.E. Weber, H.G. Schmoekel, R. Muller, and J.A. Hubbell. 2004. Synthetic extracellular matrices for in situ tissue engineering. *Biotechnology and Bioengineering* 86(1): 27–36. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=15007838](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15007838).
- [103] Wichterle, O. and D. Lim. 1960. Hydrophilic gels for biological use. *Nature* 185: 117–118.

- [104] Horbett, T.A. 1982. Protein adsorption on biomaterials. In *Biomaterials: Interfacial Phenomena and Applications*, edited by S.L. Cooper, N.A. Peppas, A.S. Hoffman, and B.D. Ratner, pp. 233–243. Washington DC: American Chemical Society.
- [105] Horbett, T.A. 1993. Principles underlying the role of adsorbed plasma proteins in blood interactions with foreign materials. *Cardiovascular Pathology* 2(3): 137s–148s.
- [106] Horbett, T.A. 1994. The role of adsorbed proteins in animal cell. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2: 225–240.
- [107] Chen, C.S., M. Mrksich, S. Huang, G.M. Whitesides, and D.E. Ingber. 1997. Geometric control of cell life and death. *Science* 276: 1425–1428.
- [108] Folch, A. and M. Toner. 2000. Microengineering of cellular interactions. *Annual Review of Biomedical Engineering* 2: 227–256.
- [109] Veiseh, M., M.H. Zareie, and M. Zhang. 2002. Highly selective protein patterning on gold–silicon substrates for biosensor applications. *Langmuir* 18(17): 6671–6678. <Go to ISI>://000177487600033.
- [110] Xia, Y. and G.M. Whitesides. 1998. Soft lithography. *Angewandte Chemie* 110(5): 568–594.
- [111] Veiseh, M. and M. Zhang. 2006. Effect of silicon oxidation on long-term cell selectivity of cell-patterned Au/SiO<sub>2</sub> platforms. *Journal of American Chemical Society* 128(4): 1197–1203.
- [112] Bray, D. 1992. *Cell Movements*. New York: Garland Publishing, Inc.
- [113] Hjortso, M.A. and Joseph W.R. (Eds.). 1994. *Cell Adhesion: Fundamentals and Biotechnological Applications*: CRC.
- [114] Zimmerman, B., M. Arnold, J. Ulmer, et al. 2004. Formation of focal adhesion-stress fibre complexes coordinated by adhesive and non-adhesive surface domains. *IEE Proceeding. Nanobiotechnology* 151 (2): 62–66. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=16475844](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16475844).
- [115] Ballestrem, C., B. Hinz, B.A. Imhof, and B. Wehrle-Haller. 2001. Marching at the front and dragging behind: Differential Alpha<sub>v</sub>beta<sub>3</sub>-integrin turnover regulates focal adhesion behavior. *The Journal of Cell Biology* 155(7): 1319–1332. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=11756480](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11756480).
- [116] Ratner, B.D., A.S. Hoffman, F.J. Schoen, and J.E. Lemons. 1996. *Biomaterial Science: An Interdisciplinary Endeavor*. San Diego: Academic Press.
- [117] Gordon, J.R. and M.R. Bernfield. 1980. The basal lamina of the postnatal mammary epithelium contains glycosaminoglycans in a precise ultrastructural organization. *Developmental Biology* 74(1): 118–135. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=7350005](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7350005).
- [118] Vogel, V. and M. Sheetz. 2006. Local force and geometry sensing regulate cell functions. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 7(4): 265–275. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=16607289](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16607289).
- [119] Yim, E.K.F., S.W. Pang, and K.W. Leong. 2007. Synthetic nanostructures inducing differentiation of human mesenchymal stem cells into neuronal lineage. *Experimental Cell Research* 313(9): 1820–1829. <Go to ISI>://000246348400007.
- [120] Semino, C.E., J.R. Merok, G.G. Crane, G. Panagiotakos, and S. Zhang. 2003. Functional differentiation of hepatocyte-like spheroid structures from putative liver progenitor cells in three-dimensional peptide scaffolds. *Differentiation* 71(4–5): 262–270. Abstract available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=12823227](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12823227).