

基于微流控的血细胞和干细胞流变学行为研究进展¹⁾戚晓菁 杜亚辉 曾为臻 李学进²⁾

(浣江实验室, 浙江诸暨 311800)

(浙江大学工程力学系, 杭州 310027)

摘要 微流控芯片作为一种微全分析技术平台, 具有精确流量控制、少量样本需求和可集成化等诸多优势, 已被广泛应用于生物医学和环境科学等领域. 利用微流控通道结构设计灵活的特点, 可在实验条件下模拟生理和病理条件下的复杂血管微环境, 其与超分辨显微成像技术的整合使得研究人员能够实时观察和分析微观尺度下的细胞动态变化过程. 因此, 在用微流控芯片系统研究细胞形态和力学特性方面也取得了重要进展. 文章重点介绍了微流控芯片技术及基于微流控的数值仿真模拟手段在红细胞、白细胞及干细胞变形和流变学行为中的应用及进展. 首先, 介绍了微流控芯片技术及相关数值仿真手段在红细胞流动变形研究中的应用; 接着, 总结了微流控芯片系统及相关数值模拟在白细胞边集及迁移行为的研究进展; 此外, 也概括了微流控芯片系统及相关数值模拟在干细胞迁移和定向分化机制方面的研究进展. 最后, 总结并展望了微流控芯片技术及其相关的数值模拟在血细胞及干细胞流变学研究中的挑战和未来发展趋势.

关键词 微流控芯片, 血细胞, 干细胞, 流变学行为, 数值模拟

中图分类号: O35 文献标识码: A doi: 10.6052/0459-1879-23-604

ADVANCES IN RHEOLOGICAL BEHAVIOR OF BLOOD CELLS AND STEM CELLS
USING MICROFLUIDICS¹⁾Qi Xiaojing Du Yahui Zeng Weizhen Li Xuejin²⁾

(Huanjiang Laboratory, Zhuji 311800, Zhejiang, China)

(Department of Engineering Mechanics, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

Abstract Microfluidics, which serves as a micro total analysis system, offers various advantages such as precise flow control, low sample requirements, and integratability. It has been widely applied in the fields of biomedicine and environmental science. The flexible design of microfluidic channel structures enables the simulation of complex vascular microenvironments under physiological and pathological conditions. By integrating super-resolution microscopic imaging technology, researchers can observe and analyze dynamic changes in cells at the microscale in real time. Microfluidic chip systems have facilitated significant advances in the study of cell morphological and mechanical properties. This article focuses on the application and progress of microfluidic chip technology and relevant numerical simulation technology to the rheological behavior of red blood cells (RBCs) and white blood cells (WBCs) as well as stem cells. It first introduces the use of microfluidic chips and numerical simulations in the study of RBC deformation. It then discusses the application of microfluidic chip systems and related numerical simulations in WBC margination.

2023-12-15 收稿, 2024-02-26 录用, 2024-02-27 网络版发表.

1) 国家自然科学基金 (12372265) 和浣江专项 (KM20220616) 资助项目.

2) 通讯作者: 李学进, 研究员, 主要研究方向为微纳尺度流动. E-mail: xuejin_li@zju.edu.cn

引用格式: 戚晓菁, 杜亚辉, 曾为臻, 李学进. 基于微流控的血细胞和干细胞流变学行为研究进展. 力学学报, 2024, 56(5): 1271-1283

Qi Xiaojing, Du Yahui, Zeng Weizhen, Li Xuejin. Advances in rheological behavior of blood cells and stem cells using microfluidics. *Chinese Journal of Theoretical and Applied Mechanics*, 2024, 56(5): 1271-1283

Subsequently, it summarizes the application of microfluidic chip systems and related numerical simulations in stem cell migration and directed differentiation. Finally, it provides a prospectus on the challenges and development trends of microfluidic technology and numerical simulation technology in the study of blood cell and stem cell rheology.

Key words microfluidics, blood cell, stem cell, cell biorheology, numerical modeling

引 言

微流控芯片 (microfluidics) 是一种集成了微流体技术和芯片制造技术的新型实验平台, 用于控制微量液体和颗粒在微小尺度下的运动和反应. 该技术通过微型化和集成化设计, 实现了对微量液体及颗粒的高精度操控和实时监测, 具有高通量、快速分析和低成本等优点, 目前已广泛应用于生物医学和环境科学等研究领域^[1-2]. 特别地, 由于微流控芯片具有设计灵活的优势, 可通过各类通道及电子元器件的排列组合来模拟人体组织内的脉管系统, 为细胞培养提供稳定的微环境^[3]. 因此微流控芯片技术已经成为血细胞和干细胞变形和流动性研究的重要工具^[4-5](见表 1). 此外, 数值仿真技术与微流控芯片技术的结合可进一步帮助人们深入研究细胞行为^[6-7]. 依托细胞几何形态和力学特性, 在细胞整体水平建立细胞数值仿真模型^[8-9], 可用于模拟研究细胞流变学行为、分析预测多种外部及内部因素对细胞流变学特性的影响规律, 并对微流控芯片结构的优化设计提供一定的理论指导.

红细胞 (red blood cell, RBC), 又称红血球, 呈双凹盘状, 直径约为 7~8 μm ^[10-11]. 红细胞膜为薄的脂质双层膜, 内部充满血红蛋白溶液, 属于高度可变形的充液弹性薄壳体. 红细胞是血液中数量最多的一

种血细胞 (约占血液体积的 45%), 能随血液流动遍及全身, 负责运输 O_2 和 CO_2 , 维护组织器官的正常功能^[12]. 在血液循环过程中, 红细胞会穿过各种尺寸的血管, 大到 4 mm 小到 5 μm , 承受着重力、拉力和剪切力^[13-14]. 然而, 在病理条件下, 红细胞的变形能力降低, 血液的高切应力增加, 会导致外周阻力增大, 影响血液循环以及组织和器官的血液供应^[15]. 因此, 研究红细胞在生理和病理条件下的变形性能对于理解血液循环及相关血液疾病的临床表现具有重要意义^[16-19]. 微流控通道可在实验条件下模拟生理和病理条件下的复杂血管微环境, 可用于探索红细胞在毛细血管或多级血管分支网络中的流动行为和变形性能, 模拟体内微血管堵塞及血栓形成过程^[20-21]. 在此基础上, 为了进一步量化分析红细胞在微通道内的流变学行为, 我们也对基于微流控芯片系统建立的相关数值仿真模型模拟研究进行了分析总结.

白细胞是一种无色有核的血细胞, 体积比红细胞大, 一般情况下形状接近球形, 大小约为 10~12 μm . 白细胞具有活跃的活动能力, 能够从血管内迁移到血管外, 或从外周组织迁移到血液循环中^[22-23]. 因此, 除了存在于血液和淋巴中, 白细胞也广泛分布于血管和淋巴管以外的组织中, 在人体免疫系统中发挥着重要作用^[24-25], 包括对损伤或感染的炎症区域作出反应. 白细胞从血液到靶组织的外渗和迁移是炎症反应的重要步骤. 这个多步骤过程受到血流动力学和各种生化信号的严格调控^[26]. 因此, 白细胞外渗过多、时间过长或定向错误是动脉粥样硬化、类风湿性关节炎、炎症性肠病和多发性硬化等多种炎症性疾病的发病机制之一. 因此, 借助微流控技术并结合数值仿真模拟研究白细胞迁移动力学过程具有非常重要的意义^[27].

再生医学和基于干细胞 (stem cell, SC) 的细胞治疗已成为当今世界各国先进生物医疗技术关注的焦点. 其主要细胞来源是具有自我更新和多向分化潜能优点的干细胞^[28-30]. 以被认为最接近临床应用

表 1 数值仿真技术在细胞流变行为中的应用

Table 1 Application of numerical simulation technology to cell rheological behavior

Type	Subject	Continuum model	Discrete model
blood cell	RBC equilibrium shape	√	√
	RBC dynamics	√	√
	RBC fluctuations	×	√
	WBC dynamics	√	√
	blood flow	√	√
stem cell	SC equilibrium shape	√	√
	SC deformation	×	√

的干细胞产品——间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 为例, 许多临床试验已经研究了间充质干细胞在治疗炎症损伤组织、脑和脊髓损伤等疾病中的疗效^[31-33]. 干细胞疗法产生疗效的基础是干细胞的归巢行为 (homing), 即在趋化因子的作用下从循环系统迁移到靶向部位的过程. 随后干细胞将进行定向分化, 从而起到组织再生的治疗作用^[34]. 因此, 基于干细胞的治疗面临的主要挑战之一是如何提高细胞的归巢效率^[35]. 归巢行为分为被动归巢 (堵塞在微血管中跨内皮迁移) 和主动归巢 (主动贴壁后跨内皮迁移), 它们不仅受遗传和化学因素的影响, 其力学表型也至关重要^[36]. 细胞的硬度、膜张力和变形能力等力学特性会直接影响细胞在血管中的变形、流动和组织中的迁移等过程. 传统的细胞研究方法无法为异质性较高的干细胞提供足够精准高效的力学表型数据^[37], 而微流控技术不仅成本低、通量高, 还可模拟并调控干细胞生长、迁移分化所需的小生境 (niche). 因此, 微流控芯片系统为观察和调节干细胞的力学特性, 并系统研究细胞归巢、迁移和分化等功能提供了有力的工具.

随着计算机技术的发展, 数值仿真模拟技术也日渐成为血细胞和干细胞流变学行为研究中的重要工具之一. 基于微流控芯片系统的数值仿真技术可用于微流道结构优化设计、实验参数敏感性分析等^[8-9]. 基于弹性理论和流体力学的连续体力模型和基于粒子模拟方法的离散网格模型是目前研究血细胞流动和变形行为的两大主流模型^[38-39] (见表 1). 连续体力模型 (如浸入式边界法^[40] 和边界积分法^[41]) 是基于欧拉网格求解方法建立的, 通常将细胞膜和细胞液视为均质材料, 容易实现与现有的计算流体力学求解器耦合, 常用于模拟含有大量血细胞的血液流动及细胞交互作用. 基于粒子的离散网格模型 (如多粒子碰撞动力学方法^[42]、耗散粒子动力学方法 (dissipative particle dynamics, DPD)^[43] 和光滑粒子动力学方法^[44]) 是将细胞膜、细胞液和血浆视为粗粒化粒子, 其优势主要体现在处理细胞膜复杂微结构问题上, 如病理状态下细胞膜与细胞骨架的分离现象、细胞膜的热涨落等. 需要注意的是, 此方法在进行流体运动的模拟计算时, 并非严格遵循纳维-斯托克斯方程, 导致该方法的计算精度较低.

本文综述了近年来微流控芯片系统及基于微流控芯片的数值仿真模型在模拟血细胞和干细胞流变

学行为中的研究进展 (如图 1). 本文首先介绍了微流控芯片技术及基于微流控系统的数值仿真技术在红细胞变形研究中的应用; 接着介绍了微流控芯片系统及相关数值模拟模型在白细胞边集和迁移行为研究中的应用. 在干细胞归巢研究中, 微流控芯片系统可以通过设计特定的微流道结构和生物信号化学梯度, 模拟干细胞在体内归巢的过程, 研究干细胞迁移和定向分化机制, 为干细胞治疗提供指导^[45]. 鉴于干细胞归巢的数值模型仿真工作较少, 只对其进行了简要介绍.

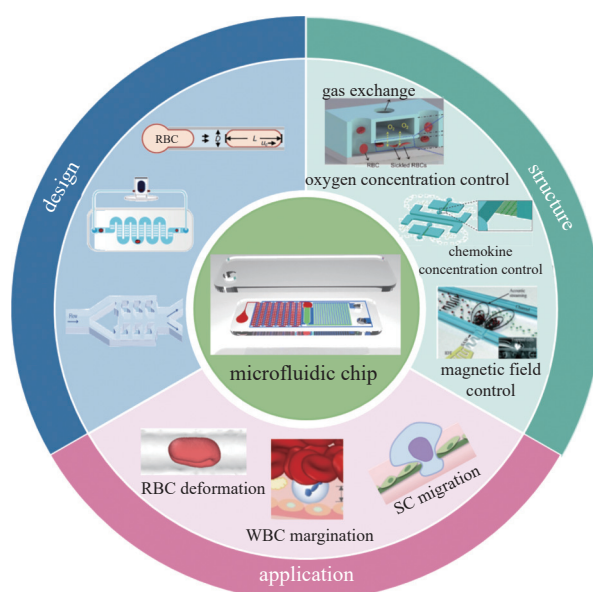


图 1 不同结构设计的微流控芯片系统在细胞流变学研究领域的应用概述

Fig. 1 Application of microfluidic chip systems with different structural designs within the field of cell rheology

1 微流控芯片系统及数值模型模拟红细胞流动变形行为研究进展

1.1 基于微流控芯片系统的红细胞变形特性研究

用于红细胞变形性研究的微流控芯片可根据芯片复杂程度分为两大类: 单通道芯片和多通道芯片. 他们可以分别用于模拟红细胞在直通毛细血管和复杂血管分支网络中的流动行为. 单通道微流控芯片具有高灵敏度, 可以直接观察到细胞和亚细胞水平的动态过程. Quinn 等^[9] 通过单通道微流控芯片定量探究了健康红细胞在毛细血管内的流变规律. 他们通过调节通道出入口的压力差控制流体流速, 以模拟真实毛细血管中的流动工况. 在压力驱动下, 红细

胞可以穿过横截面积只有 $8\ \mu\text{m}^2$ 左右的狭窄通道,发现细胞流动速度与压力差存在线性关系. 鉴于红细胞流变学功能障碍的一个常见指标是红细胞可变形性的降低,探究红细胞的变形能力对于理解相关血液疾病具有重要意义. 基于此,Guo 等^[13]在此芯片基础上进行了改进,设计了多个串行的漏斗形渐缩毛细通道来探究健康红细胞的挤压变形规律. 他们发现了一个具有高度可重复性的物理量——皮质张力来表征红细胞的变形性能. 类似地,皮质张力可用于衡量病理条件下红细胞的变形性能,辅助相关血液疾病(如遗传性球形红细胞症和镰状红细胞贫血症等)的临床诊断,从而获得有关血液疾病临床状态以及药物治疗的一些关键信息. Guo 等^[46]将这样的微流控芯片用于研究疟疾感染红细胞的变形性能的变化,并根据测定的红细胞过毛细通道的驱动压力值来判断恶性疟原虫感染红细胞的严重程度.

由于单通道微流控芯片的通量有限,无法并行研究多个细胞的力学表型,人们设计出了多通道微流控芯片来弥补单通道芯片的通量缺陷,以满足疟疾患者血样中的低浓度疟疾感染红细胞的收集和分析. 此外,多通道微流控芯片的多维网格可以模拟复杂的分支血管形态,构建更逼真的血流微循环环境. Li 等^[47]设计了一种多通道并行排列的微管道阵列,利用宽度仅为 $3\ \mu\text{m}$ 的通道构建受限空间. 在这样的微流控芯片中,健康的红细胞会快速通过微通道,而疟疾感染红细胞因其较差的变形性而难以挤入狭窄微通道. 镰状红细胞贫血症是一种常见的遗传性血液疾病,临床表现为慢性溶血性贫血、易感染和再发性疼痛危象以及局部缺血,导致组织器官损害. 由于镰变红细胞对微环境中的氧气浓度十分敏感,想要模拟红细胞在毛细血管中的流动及堵塞需要实验装置能实现对氧气浓度的调控,这对常规实验装置来说是个极大的挑战. Embury^[48]利用互联多通道微流控装置解决了这一难题,并实现了氧气浓度可调的仿生毛细血管微环境. 通过调节氧气浓度,可以控制红细胞的镰变过程并分析红细胞从发生镰变到导致镰状细胞危象的整个过程. 镰变红细胞不仅影响自身变形能力造成毛细血管及小静脉堵塞,还会增加血液黏滞性,从而导致一系列炎症反应并在相应部位产生疼痛危象. Papageorgiou 等^[49]通过微流控实验发现镰变初期的红细胞在毛细管中显著地黏附于管道内壁,低氧浓度会进一步增强镰变红细胞的

黏附,但氧气浓度的改变对镰变末期的红细胞的黏附能力无明显影响.

1.2 基于微流控芯片系统的红细胞疲劳特性研究

红细胞随血流在体内流动时,当流经毛细血管时会发生挤压变形,其形态从双凹圆盘形逐渐转变为球形,变形性下降,进而造成毛细血管的堵塞. 另外,在血液储存过程中,红细胞的形态、结构和功能也会发生变化,这些变化被称为储存损伤^[50-51]. 近年来,一些学者采用微流控实验方法从形态学、生物力学等角度对红细胞储存损伤展开研究^[52-53],例如,Zheng 等^[54]基于双流体聚焦原理,采用微流控实验方法研究了红细胞在储存周期内变形性的改变. 研究发现,随着储存时间增加,球形红细胞数目增多,红细胞的分布宽度也会明显变宽. 但红细胞的松弛时间恢复系数却显著降低,证实是由于红细胞内 ATP 的消耗引发细胞骨架重组,导致细胞膜硬化和更快的恢复速率. 这些结果表明可以使用时间恢复系数和细胞分布宽度来衡量储存的红细胞质量.

红细胞疲劳是指在机械拉伸力的循环加载下,其形态和力学特性呈现显著变化的现象. 然而,红细胞在体内循环时受到挤压变形而导致的疲劳损伤程度很难在体内直接测量,这给研究疲劳过程中红细胞的变形特性和生物力学特性带来了巨大挑战. 近年来,研究人员借助微流控平台尝试在体外模拟这一过程,以研究红细胞疲劳的潜在影响机制. 例如,Sakuma 等^[55]采用微流控实验方法(如图 2),提出了一种衡量红细胞疲劳状态的指标. 他们通过注射器对微通道中的红细胞传递往复的机械应力,精准控制红细胞数百次的循环挤压变形. 研究发现,随着循环挤压次数的增加,红细胞逐渐失去变形能力:微通道出口处的细胞长度与细胞离开通道后的长度相等,并且不同细胞样本具有相同的疲劳趋势和不同的临界数值. 这些结果证实了采用细胞失去变形能力的临界挤压数值来评价疲劳状态的可行性. 进一步研究发现该临界数值与变形指数呈线性关系,因此变形指数也可作为细胞疲劳状态的评价指标. Qiang 等^[56]采用调幅电变形和微流控芯片系统来表征单个红细胞的动态疲劳程度. 该方法不仅可以对通道内的红细胞施加静态载荷,也可以通过在微流控装置的交叉电极两端加载正弦波信号,实现红细胞的循环拉伸变形. 研究发现随着拉伸次数增加,红

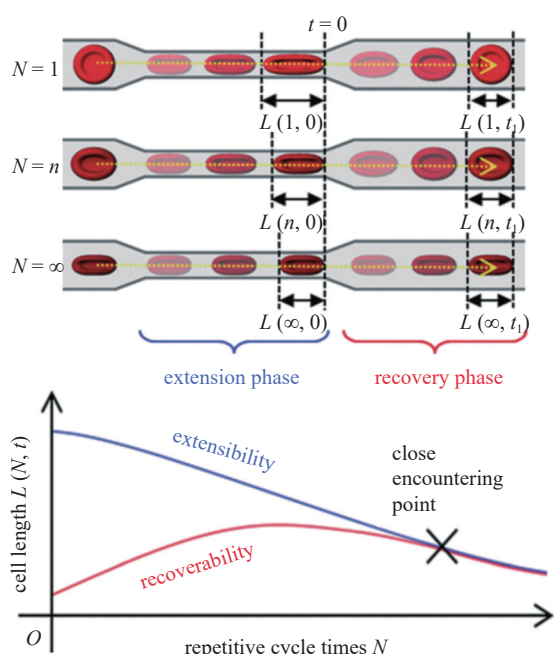


图2 采用微流控芯片技术评估红细胞疲劳损伤程度^[55]

Fig. 2 Assessment of mechanical fatigue in RBCs through the utilization of microfluidics^[55]

细胞逐渐丧失可恢复性, 且峰值载荷越大, 细胞变形能力下降更加显著. 该结果证实了在循环载荷作用下, 红细胞也会产生机械疲劳效应, 且在相同的累积加载时间和相同的最大载荷下, 循环载荷对红细胞造成的膜损伤明显大于持续的静态载荷情况. 此外, Pan 等^[57] 设计了类似 ECMO 结构的多通道微流控芯片, 研究了红细胞在周期性挤压下的疲劳响应机制. 他们发现, 当红细胞经历周期性挤压变形后, 细胞内 ATP 水平降低, 其形态逐渐棘形化, 导致变形能力下降; 然而, 在低挤压频率下, 细胞不容易出现机械疲劳现象. 这些结果揭示了以挤压频率为主导的疲劳机制, 并表明细胞疲劳程度与细胞内 ATP 水平的关联性. 由此可见, 机械疲劳在影响细胞力学特性方面有着重要作用.

红细胞在其生命周期内会不断经历循环挤压变形, 直至被脾脏清除. 为了更好地了解脾脏清除衰老红细胞的潜在力学机制, Garcia-Herreros 等^[14] 设计了一种含有狭窄微通道的微流控芯片, 用来研究红细胞在循环应力作用下反复穿越脾狭缝的流动变形特性. 他们通过量化红细胞挤压次数与细胞体积、球度指数、弯曲模量等参数的变化关系, 并结合细胞骨架-膜蛋白成分分析, 认为囊泡的释放、细胞球形化及膜蛋白损失是导致衰老红细胞更易被巨噬细

胞吞噬清除的主要原因. 此外, 在血液循环中, 红细胞会反复流经富氧和缺氧的器官组织, 氧张力水平的反复变化会影响血红蛋白的氧亲和力, 从而改变细胞的变形性能. 例如, 在镰状红细胞贫血病中, 研究表明氧气转运机制障碍会导致红细胞变形能力下降^[58]. 为此, Qiang 等^[59] 采用微流控芯片系统分析了缺氧环境对红细胞疲劳特性的影响. 基于不同低氧浓度环境的实验结果, 他们分析了健康红细胞和镰状红细胞经历不同拉伸时间后的变形性能变化, 发现镰状红细胞会更快进入疲劳状态.

1.3 红细胞在微管道中流动变形的数值模型模拟

人们通过设计不同的微流控芯片系统对红细胞的流动变形特性进行了大量的实验研究. 然而, 关于单个红细胞在最小毛细管相关长度尺度 (约 $3\ \mu\text{m}$) 中的流动特性仅有定性结果, 缺乏充足的定量分析来更好地理解红细胞的流动变形规律及影响机制. 此外, 微流控通道只能观测到红细胞的二维变化, 第 3 个维度上的数据无法通过实验直接获取. 因此, 学者们基于微流控实验结果建立了红细胞的数值模型, 模拟生理/病理红细胞在穿越脾脏内皮间狭缝、毛细血管和复杂血管分支网络等多个尺度管道时的不同流变学特性^[9, 60-64] (见图 3(a)).

脾脏在人体中起着储存血液、造血、清除老化红细胞和进行免疫应答的作用, 其清除老化血细胞的力学机制就是利用狭窄的内皮间狭缝过滤变形性能较差的病变或衰老红细胞. Pivkin 等^[60] 通过数值模拟发现红细胞的体面比比其膜刚度更能决定红细胞在脾狭缝中的截留率. Ma 等^[62] 利用类似的数值模型发现在红细胞达到被困在脾狭缝中的临界体面比之前, 红细胞直径的减小可以缩短其通过脾狭缝所需的时间, 而膜黏度的增加则会减慢其通过速度 (如图 3(b)). 此外, 老化相关的膜面积损失过程中, 需要更大的临界压力梯度才能使红细胞变形以通过脾狭缝, 从而导致更强烈的损伤, 使得其在下一轮脾狭缝“考验”中的截留概率升高. Quinn 等^[9] 在单通道微流控实验基础上进行了基于耗散粒子动力学方法的数值模拟 (如图 3(c)), 表征了红细胞在穿越宽度分别为 3 和 $6\ \mu\text{m}$ 的毛细通道时的局部膜面积膨胀率, 发现红细胞的头部面积膨胀最多, 表明在变形时红细胞头部受到的应力最大. 为了深入了解在多级血管中红细胞的流动特性, Li 等^[63] 发展了一个具有流入/

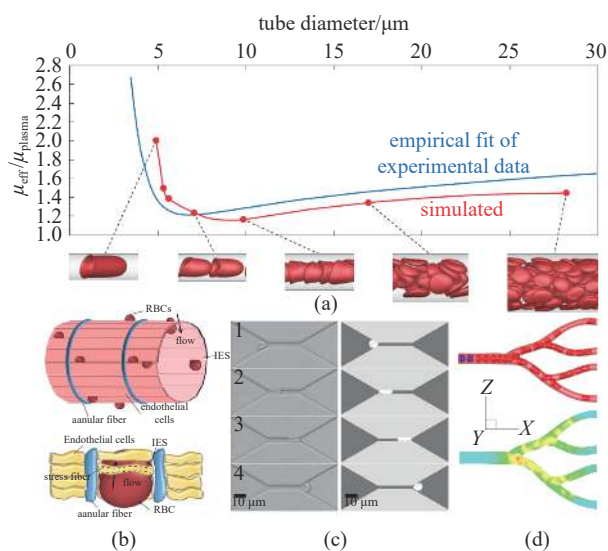


图3 红细胞在微管道中流动变形的数值模拟。(a)不同尺度下红细胞变形及黏滞阻力的模拟及实验结果^[64];(b)脾狭缝的微结构^[62];(c)红细胞在毛细血管中的流动变形^[9];(d)红细胞在分叉微血管中的流动变形及分布特征^[63]

Fig. 3 Numerical simulation of RBC dynamics in microfluidic channels. (a) Simulation of RBC deformation and flow resistance at various length scales, comparing with experimental results^[64]; (b) Structure of splenic slit^[62]; (c) RBC motion in microcapillaries^[9]; (d) RBC distribution in bifurcating microtubes^[63]

流出边界条件的模型模拟方法,用于模拟研究红细胞悬浮液在分叉微血管网络中的流动变形行为。他们的结果表明,流体在微血管主分叉管道内的速度幅度较大,而在小分支内的速度幅度相对均匀,速度分布呈典型的塞状(如图3(d))。Wang等^[40]使用浸入式边界方法对红细胞在不同直径微通道内流动、变形和传质进行了数值分析,从细胞尺度阐明了微循环系统中细胞膜的力学特性与流场剪切特性和微管对细胞的几何约束等多种因素之间相互耦合作用下的传质特性。Ai等^[18]利用浸没有限元方法研究了零质量射流作用下红细胞在微通道中的运动变形过程,分析了压力梯度、射流振动频率和振幅等参数对细胞膜力敏通道开启程度的影响规律。Xiao等^[65]借助耗散粒子动力学模拟方法研究了红细胞在渐缩-渐扩通道内的流动变形行为,分析了颈缩口尺寸等因素对红细胞通过渐缩-渐扩通道的影响规律。Ye等^[44, 66]利用耗散粒子动力学及光滑粒子流体动力学模拟方法研究了红细胞在复杂管内及流体芯片中的运动、变形以及聚集行为。这些模拟研究可帮助人们在细胞-亚细胞等层面理解健康和疾病中的红细胞在毛细血管内的流动规律及机制。

2 微流控芯片系统及数值模型模拟白细胞流变学行为研究进展

2.1 基于微流控芯片系统的白细胞流动变形特性研究

白细胞在随血液流动过程中,受到惯性升力和细胞-血管壁相互作用的影响,会发生边集并贴附在血管内壁进行滚动。白细胞的滚动行为受两种力的支配,即血流的剪切应力和白细胞膜-血管内皮间的黏附作用力。炎症的最初迹象之一是白细胞黏附在静脉血管壁上。这种黏附始于粒细胞沿静脉血管壁的滚动运动,其速度远远慢于红细胞在相同血管中的流动速度。在滚动与黏附的过程中,白细胞能够识别趋化因子并接收炎症信号。随着炎症的发展,越来越多的滚动白细胞停滞下来,其中一部分白细胞外渗血管至炎症区域所在的部位^[22]。

在输血前,需要对提供的血液进行白细胞滤过,因为白细胞在输注到患者身上时会被其自身的白细胞抵御,引发各种不良反应。白细胞在血液中边集的这一动态特性可以用于白细胞的滤过。Xia等^[67]就利用受控增量过滤(controlled incremental filtration, CIF)技术设计了一种微流控芯片系统,可以高效过滤分离白细胞。在该装置中,有一个主通道和位于两侧平行的侧通道,利用主通道与侧通道之间规则分布的间隙过滤分离白细胞。他们经实验证实,利用该微流控装置可以实现白细胞的高效快速过滤分离,进而将血液中白细胞浓度降低至原来的1/1000。

白细胞外渗迁移通常由趋化因子介导,通过感知趋化因子浓度迁移到特定位置(如损伤或感染组织)来完成免疫功能。白细胞迁移失败或迁移到不当位置会对人体产生伤害。因此,利用微流控装置对白细胞外渗迁移影响机制研究非常重要。Cheng等^[68]设计了一种基于水凝胶的微流控装置来研究白细胞的迁移。该装置采用3通道设计,在一个外通道中设置恒定的趋化因子浓度,在另一个外通道中设置空白缓冲液。这样的设计可以避免力学刺激影响化学刺激,进而防止剪切应力影响趋化因子梯度分布。通过该装置,他们成功检测到了白细胞的趋化反应。炎症与许多疾病(如动脉粥样硬化)相关,最初的炎症反应包括白细胞沿着毛细血管后静脉黏附到感染部位的血管内皮并进行滚动,这一黏附滚动过程由多个不连续步骤组成,受多种因素包括趋化因子影响。因此,研究各种因素对白细胞黏附滚动的影响具有重要意

义. Schaff 等^[19]设计了一种平行板几何结构的微流控装置, 可用于直接观察白细胞在微通道中的黏附滚动情况. 利用该装置, 他们研究分析了不同趋化因子浓度下白细胞的黏附滚动和停滞情况, 认为从血液中转移白细胞受趋化因子与整合素等因素影响.

与正常生理条件下的白细胞运动行为相比, 病理条件下的白细胞在边集、滚动、外渗和迁移等运动行为上有不同的表现. 因此, 有必要研究病理条件下白细胞的运动行为以及其受药物作用的影响. Fay 等^[17]设计了两个独立的体外微流控芯片系统, 分别模拟毛细血管和静脉, 并研究了两种白细胞边集与黏附的情况. 利用仿生毛细血管微流控装置, 他们通过测量白细胞通过一定距离所需的时间来评估白细胞的边集程度; 利用仿生静脉微流控装置, 他们通过测量白细胞与通道壁的间距来评估白细胞的边集情况. 通过对比实验, 他们发现地塞米松等抗炎药物可以抑制白细胞的边集行为, 这对揭示白细胞动态行为变化的影响机制具有重要意义. 另外, Tsai 等^[69]设计了一种微流控器件来模拟毛细血管后小静脉和小动脉形成的分叉血管网络, 并在生理和病理血流下分析白细胞-内皮细胞黏附行为对微血管堵塞及血栓形成的影响. 他们发现, 白细胞-内皮细胞黏附及多细胞聚集等力学因素可以对包括血流速在内的多种血流动力学指标带来显著影响. 同时, 他们还定量分析了羟基脲药物对微血管堵塞的影响, 发现该药物可以降低微血管堵塞的几率, 从而为解释该药物的临床疗效提供了细胞水平的数据支持.

2.2 白细胞在微管道流动变形行为的数值模型模拟

白细胞是人体最主要的免疫细胞, 担任着免疫防御、免疫稳定和免疫监视的角色, 研究其边集、迁移及渗出等动力学行为对深入理解其免疫功能至关重要. 数值模型模拟技术的应用可以帮助我们深入理解细胞水平上白细胞的运动行为, 包括细胞流动变形行为、边集及黏附等过程^[70].

研究表明, 白细胞的边集行为受多种因素的影响, 包括红细胞压积、局部血流速率和速度分布, 以及红细胞-红细胞的聚集性能. 显然, 通过微流控实验研究分析这些影响因素对白细胞行为的影响有很大的挑战. 因此, 研究人员开始利用数值模型模拟来深入探讨相关的白细胞边集/流动规律及影响机制. Fedosov 等^[71]模拟了白细胞在不同红细胞压积下的边集行为, 发现红细胞的高压积有助于白细胞的边

集. 他们认为, 这是因为高压积的红细胞具有更大的聚集区域和更紧密的堆积性, 将白细胞推向血管壁面的力则会更大, 从而使得白细胞更容易边集. Freund 等^[72]用 29 个红细胞和 1 个白细胞模拟了白细胞在微血管中的边集行为, 他们探究了血液流速对白细胞边集的影响, 发现白细胞边集的位置与血管中的无细胞层 (cell-free layer, CFL) 息息相关.

白细胞的边集与迁移受到红细胞压积的影响, 同时与血管中的无细胞层的流速息息相关. 这些理论结果为仿生微纳机器人的研发提供了新的思路. 例如, Alapan 等^[73]研发了一种磁性驱动的微纳机器人, 这种机器人模仿白细胞的边集和迁移实现靶向递药. 但这样的仿白细胞微纳机器人在血管内的生物力学和生物流变学对受控的剪切应力的响应机制目前尚不清楚. 基于此, Qi 等^[74]基于 DPD 方法构建了类似的仿白细胞微纳机器人模型, 以研究其在不同剪切应力水平下的动态性能 (如图 4). 他们的仿真结果表明, 磁转矩可以精准控制被磁化的微纳机器人在血管内的顺流及逆流运动, 且逆流速度随着磁转矩强度的增大而增大. 此外, 他们还发现流动的红细胞会与逆流运动的微纳机器人发生碰撞, 进而阻碍其运动. 这些模拟结果有助于理解单个微纳机器人在血流中的爬行动力学行为, 为促进仿生微纳机器人在靶向和局部治疗中的设计提供了一定的理论指导.

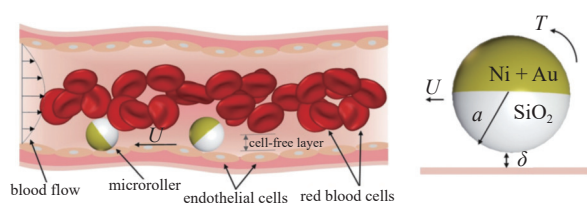


图 4 仿生白细胞微型机器人在微管道中的流动变形的数值模型模拟^[74]

Fig. 4 Numerical simulation of the dynamic rolling of WBC-inspired microroller^[74]

3 微流控芯片系统及数值模型模拟干细胞流变学行为研究进展

3.1 基于微流控芯片系统的干细胞变形特性研究

用于治疗干细胞被注射入血液循环系统后会有什么样的经历和命运? 了解干细胞在微血管内的“冒险经历”对提高干细胞疗法的疗效有着重要的

意义. 干细胞直径通常为 $15 \sim 30 \mu\text{m}$, 这一数据显然大于毛细血管直径 ($3 \sim 10 \mu\text{m}$), 意味着进入微血管的干细胞易造成血管堵塞, 直接导致细胞无法进入下一步的归巢环节^[75]. 因此, 了解干细胞的变形性能对提高干细胞疗法的疗效至关重要. 微流控细胞变形性检测方法因其操作简单、无需标记样本、成本低和通量高的特点成为了单细胞力学表型分析的有力工具, 在研究细胞变形过程中的生理状态和病理变化方面表现出了巨大的潜力^[2, 7, 19, 76-77]. 目前, 基于微流控技术的细胞力学表型测量方法主要有 3 种: 收缩变形流式细胞术 (constriction deformability cytometry, cDC)、流体剪切变形流式细胞术 (fluid shear deformability cytometry, sDC) 和拉伸变形流式细胞术 (extensional flow deformability, xDC)^[78]. 这 3 种典型微流控流式细胞术是在流场中分别利用压力、剪力、拉力驱动目标细胞产生不同程度的变形, 从而量化其变形能力. 通过以上 3 种方法, 可以直接观察和测量得到细胞的刚度. Ni 等^[79] 在 cDC 基础上设计了一种多通道并行的微流控芯片用以测试敲除 Ptpn21 蛋白的造血干细胞的流动变形能力, 发现 Ptpn21^{-/-}的造血干细胞通过渐缩的微通道时的流动速度明显比天然造血干细胞的速度更快, 且更不易黏滞在微流控通道内.

不同类型的干细胞具有不同的细胞刚度, 即使是同类型的干细胞, 在健康状态和病理状态下也有比较大的差异. 长期以来, 学界致力于在人类骨骼中鉴定并分离出各种类型的干细胞, 却一直难以确定可靠的细胞表面标志物、合适的组织解离方案和功能性干细胞试验. Xavier 等^[77] 在经典的 sDC 基础上运用实时可变形流式细胞术 (real-time deformability cytometry, RT-DC) 分别测量了骨骼干细胞 (间充质干细胞的一个亚群)、间充基质细胞以及白细胞的力学表型, 发现这 3 类细胞在细胞尺寸和变形程度上表现出了显著的差异. 实验表明骨骼干细胞的细胞刚度大于其他两类细胞, 利用细胞刚度差异来提高骨骼干细胞的分离效率具有显著的生理治疗意义和临床转化的潜力.

干细胞的刚度和尺寸均高于红细胞, 因此在微血管内流动输运显然存在困难. 对大鼠冠状肌从小动脉到小静脉的动脉内的输运过程中, 跟踪显示 92% 的间充质干细胞在毛细血管前水平的血管中发生了阻滞, 导致局部缺血^[75]. Hodgson 等^[80] 利用瞬态

过滤实验 (transient filtration test) 给出了间充质干细胞所能通过毛细通道的直径与压强差之间的关系; 同时, 他们发现间充质干细胞在穿越与毛细血管尺寸相当的通道时所需的驱动压差超越了体内真实毛细血管中的压差数值, 从而导致极高的微血管堵塞率; 此外, 他们还发现在细胞直径与毛细通道直径比大于 1.56 临界值时, 能够驱动间充质干细胞通过毛细通道的压差值迅速上升, 这与细胞直径与细胞核直径的平均比值 ($1.62 \pm 0.23 \text{ SD}$) 有直接关系. 根据这一发现, 许多学者开始研究干细胞的细胞核, 并得出共同的结论: 细胞核是决定干细胞力学特性的核心结构^[18, 81-82]. 于是, 人们开始通过改良微吸管技术 (micropipette aspiration technique) 来提高测量干细胞及其细胞核力学表型的效率^[81, 83]. Davidson 等^[82] 开发了一种高通量的新型微流体装置和半自动成像分析通道 (如图 5(a)) 来探测完整细胞中随时间变化的细胞核力学行为. 这种高通量的微吸管芯片可以在完整干细胞中以高分辨率观察和量化细胞核的变形, 适用于并行测量 4 组不同类型的多个细胞数 (每组 18 个通道), 比传统的单细胞微吸管实验或原子力显微镜技术高 1 ~ 2 个量级. 这种多通道微流控芯片设计允许快速加载、清洗细胞并进行测量, 在提高测量效率的基础上最大限度地减少细胞簇的堵塞.

3.2 基于微流控芯片系统的干细胞迁移行为研究

那些顺利通过微血管关卡的干细胞将面临更大的挑战——迁移, 即穿越直径仅为 $2 \sim 5 \mu\text{m}$ 的血管内皮细胞间的狭缝, 并爬行至炎症组织部位. 干细胞迁移对其生理和病理过程都至关重要. 为了在体外模拟这一特殊过程并量化细胞的主动迁移能力, Tong 等^[83] 设计了一种具有迁移室的微流控芯片系统, 该迁移室利用可自我维持的趋化因子浓度梯度来诱导细胞在三维受限空间内的迁移运动. 然而, 该迁移室通道的几何形状与真实的体内生理微环境几何形状存在较大差异, 基于此, Davidson 等^[84] 对细胞迁移微流控芯片设计进行了改良, 使其微通道能够模仿体内内皮细胞间狭缝的尺寸, 从而能够观察到干细胞通过狭窄通道时产生的变形, 以预测间充质干细胞在内皮细胞间狭缝处的挤压情况, 量化间充质干细胞及其细胞核在仿生微通道中的迁移能力 (如图 5(b)). 类似地, 他们团队发现细胞核的变形能力是

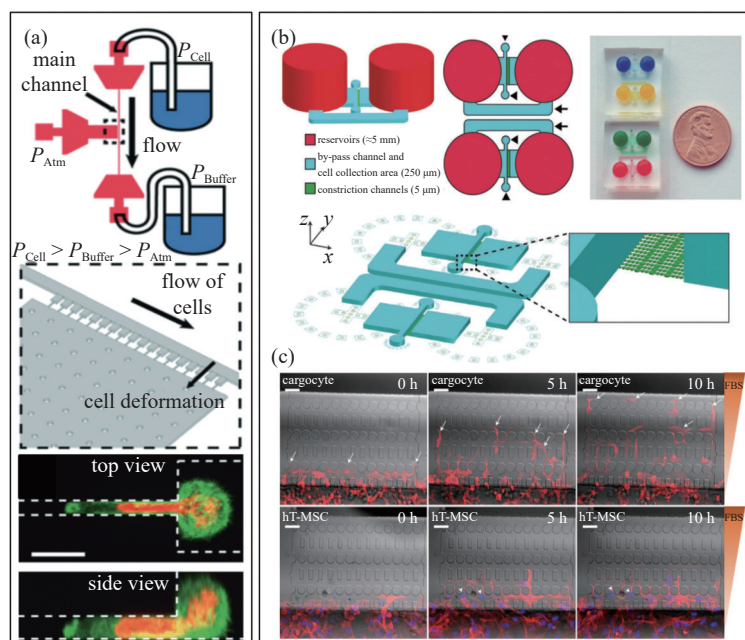


图 5 (a) 基于高通量微吸管实验装置分析细胞核动力学行为. 干细胞荧光染色图像中, 红色荧光标记细胞核, 绿色荧光标记细胞质^[82]. (b) 基于微流控芯片研究干细胞跨内皮迁移行为. 两个红色柱形储液池产生趋化因子浓度梯度用于干细胞迁移^[84]. (c) hT-MSCs 和 Cargocyte 在微通道迁移的延时图像序列. 红色和蓝色分别显示的是细胞骨架和细胞核. 标尺长度为 50 μm ^[86]

Fig. 5 (a) Analysis of cell nuclear dynamics based on a high-flux micropipette experimental device. Fluorescent staining images of stem cells display the nucleus, depicted with red fluorescently labeled histone, and the cytoplasm, represented by green fluorescently labeled actin^[82]. (b) Microfluidic chip-based stem cell transendothelial migration device. Two red cylindrical fluid reservoirs designed to generate chemokine concentration gradients that promote stem cell migration into spatially-restricted green region^[84]. (c) Time-lapse image sequences of hT-MSCs and Cargocytes moving along a narrow gradient in microfluidic device, with a ruler length of 50 μm for scale. The F-actin cytoskeleton is shown in red and the nucleus in blue^[86]

限制细胞在狭窄通道 (2 ~ 5 μm) 中迁移的一个重要因素. 为了提高该微流控系统的检测分析能力, Elacqua 等^[85] 开发了一套 MATLAB 程序, 用以追踪细胞核在仿生狭缝中的运动轨迹、迁移时间和迁移成功率, 同时可以检测细胞及其核的完整性, 将检测分析时间从数周缩短到了数小时, 并且可消除手动测量引起的误差.

为了进一步提高干细胞的迁移效率, Wang 等^[86] 通过离心将间充质干细胞进行去细胞核处理, 并对去核间充质干细胞 (cargocyte) 进行了迁移能力测试 (如图 5(c)). 通过与天然人源间充质干细胞 (hT-MSC) 迁移结果对比, 发现 Cargocyte 可有效地通过狭窄通道, 而 hT-MSC 则经常被捕获在狭缝中. 这一结果表明, 去核干细胞比天然干细胞具有更好的变形能力, 这与先前研究结果一致: 细胞核的硬度是周围细胞质的 2 ~ 10 倍, 且细胞核与细胞骨架的物理耦合足以增加细胞骨架的变形能力.

微流控系统的不断发展为研究人员提供了一个更真实、可控的仿生实验平台, 帮助揭示干细胞生理行为中的关键问题, 对干细胞疗法的改良提供了

潜在的策略.

根据细胞相关生理参数在细胞整体系统水平建立细胞数值模型, 对于进一步理解细胞流变行为和生理状态规律, 预测各种环境扰动对细胞功能的影响并指导设计干细胞微流控实验具有重要意义. 鉴于数值模型模拟在红细胞、白细胞流变行为研究中已经有了广泛应用, 学者们也开始尝试将数值模型模拟方法与微流控实验结合起来, 对干细胞流变和归巢行为的力学影响机制进行深入研究. Qi 等^[87] 基于 DPD 方法建立的干细胞归巢行为数值模型作为研究干细胞跨内皮迁移实时动态行为的模拟平台, 通过大规模并行计算实现了干细胞在流体力推动情况下挤压通过仿生内皮细胞间狭缝的动态过程观测, 同时, 他们实现了干细胞跨内皮迁移行为发生时细胞及其核的表面剪切应力变化、流场信息变化的数据捕捉、传输及自动入库功能. 现在, 数值仿真技术与微流控芯片技术结合的研究方法应用得越来越广泛, 微流控实验允许研究人员精确控制细胞所处微环境, 数值仿真可以帮助研究人员快速进行参数优化, 以找到最佳实验条件, 从而节省时间和资源,

减少实验次数的同时还能提高实验效率. 此外, 数值仿真可以深入人们对细胞变形、迁移的理解, 有助于解释实验观察到的现象.

4 结 论

随着技术的不断进步和创新, 微流控技术将在细胞力学和生物医学研究领域发挥越来越重要的作用, 为人们对生命科学的理解和医学诊疗技术的进步带来更多的可能性. 在本综述中, 我们总结了微流控技术以及基于微流控的数值仿真技术在血细胞及干细胞流变学行为方面的研究进展, 并简单展望了未来的发展趋势 (见表 2). 首先, 我们介绍了微流控技术的基本原理, 并阐述了其在生物医学工程领域的重要作用. 随后, 我们围绕微流控技术及基于微流控技术的数值仿真方法在血细胞和干细胞两大研究

领域的应用展开了详细讨论. 在血细胞领域, 我们强调了微流控技术在红细胞变形性分析和白细胞迁移行为研究中的关键作用. 研究人员通过微流控芯片系统可以模拟不同的血流微环境, 实时观察血细胞的变形、迁移以及与周围环境的相互作用, 为生理与病理条件下的血细胞力学和血流动力学的研究提供了新的视角. 在干细胞领域, 我们强调了微流控技术在研究干细胞力学特性和血流微环境对干细胞归巢行为影响方面的应用. 微流控技术使得研究者可以更直观地观察和分析干细胞的变形性、迁移能力以及与周围细胞的相互作用, 为再生医学和组织工程领域的研究提供了新的思路 and 手段. 基于微流控实验的数值仿真在这一领域的发展帮助研究人员们快速优化实验条件, 找到潜在的关键参数, 能够有效提高实验效率.

表 2 微流控芯片系统在血细胞与干细胞流变学研究中的主要发现和未来研究趋势

Table 2 Primary findings and forthcoming trends regarding the use of microfluidic chips in studying the rheological properties of blood cells and stem cells		
Type	Subject	Trend
blood cell	RBC velocity increases in a linear fashion with pressure difference ^[9] RBC driving pressure has correlation with disease status ^[13]	RBC adhesion dynamics in specific diseases
	cytoskeletal reconstruction occurs in stored RBCs ^[17] mechanical mechanism of aged RBC clearance in the spleen ^[14]	RBC fatigue in cell aging, storage and disease
	high-throughput separation of WBCs ^[18] influence of chemokines on WBC migration ^[19] anti-inflammatory drugs inhibit WBC margination ^[69]	WBC separation by microfluidics with biosensor electrodes for diagnostics
stem cell	nuclear deformability critical for cell migration in narrow pores ^[28] driving pressure in capillary exceeds in vivo pressure, with critical size ratio mutation ^[29]	migration patterns of SC transition in microenvironment

微流控芯片技术的微尺度、微循环的特性, 可以精确考察控制单细胞尺度微环境; 但目前还难以满足血管力学特性的模拟, 在体外模拟血管壁弹性、内皮黏附能力和渗透等功能方面仍面临一系列挑战. 同时, 由于血细胞和干细胞所处的细胞力学微环境十分复杂并且在持续变化, 微流控芯片还不能完全复现细胞所处小生境. 随着增材制造技术和 3D 打印等技术的蓬勃发展, 人们有望构建仿真人造血管等方式来实现生物材料的非线性和各向异性, 从而为血细胞及干细胞流变学行为分析的后期研究和应用提供有力实验平台. 此外, GPU 加速的大规模

并行数值模拟技术和机器学习等新兴方法与微流控技术的结合, 也会为未来的细胞流变学领域的基础研究及干细胞疗法的临床应用研究提供有力支撑.

参 考 文 献

1 孙薇, 陆敏, 李立等. 微流控芯片技术应用进展. 中国国境卫生检疫杂志, 2019, 42(3): 221-224 (Sun Wei, Lu Min, Li Li, et al. Application progress on microfluidic chip technology. *Chinese Frontier Health Quarantine*, 2019, 42(3): 221-224 (in Chinese))

2 Chen Y, Guo KF, Jiang L, et al. Microfluidic deformability cytometry: A review. *Talanta*, 2023, 251: 123815

3 Ayuso JM, Virumbrales-Muñoz M, Lang JM, et al. A role for micro-

- fluidic systems in precision medicine. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 1-12
- 4 戚晓菁, 李学进. 微流控芯片技术在血细胞变形和流动性分析研究中的应用进展. *实验流体力学*, 2020, 34 (2): 1-10 (Qi Xiaojing, Li Xuejin. Research progress on mechanical and flow properties of blood cells in microcirculation using microfluidic devices. *Journal of Experiments in Fluid Mechanics*, 2020, 34 (2): 1-10 (in Chinese))
 - 5 Sackmann EK, Fulton AL, Beebe DJ. The present and future role of microfluidics in biomedical research. *Nature*, 2014, 507(7491): 181-189
 - 6 McIntyre D, Lashkaripour A, Fordyce P, et al. Machine learning for microfluidic design and control. *Lab on a Chip*, 2022, 22(16): 2925-2937
 - 7 Chen HX, Guo JH, Bian FK, et al. Microfluidic technologies for cell deformability cytometry. *Smart Medicine*, 2022, 1(1): 1-12
 - 8 唐梓涵, 李学进, 李德昌. 耗散粒子动力学方法在生物学领域的应用与研究进展: 从蛋白质结构到细胞力学. *科学通报*, 2022, 68(7): 741-761 (Tang Zihan, Li Xuejin, Li Dechang. Dissipative particle dynamics simulations for biological systems: From protein structures to cell mechanics. *Chinese Science Bulletin*, 2022, 68(7): 741-761 (in Chinese))
 - 9 Quinn DJ, Pivkin I, Wong SY, et al. Combined simulation and experimental study of large deformation of red blood cells in microfluidic systems. *Annals of Biomedical Engineering*, 2010, 39(3): 1041-1050
 - 10 Yoshida T, Prudent M, D'alessandro A. Red blood cell storage lesion: causes and potential clinical consequences. *Blood Transfusion*, 2019, 17: 27-52
 - 11 Yourek G, McCormick SM, Mao JJ, et al. Shear stress induces osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Regenerative Medicine*, 2010, 5(5): 713-724
 - 12 Secomb TW. Blood flow in the microcirculation. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 2017, 49(1): 443-461
 - 13 Guo Q, Duffy SP, Matthews K, et al. Microfluidic analysis of red blood cell deformability. *Journal of Biomechanics*, 2014, 47(8): 1767-1776
 - 14 Garcia-Herreros A, Yeh YT, Peng Z, et al. Cyclic mechanical stresses alter erythrocyte membrane composition and microstructure and trigger macrophage phagocytosis. *Advanced Science*, 2022, 9(20): 2201481
 - 15 Abkarian M, Faivre M, Stone HA. Red blood cell dynamics, deformation and separation in microfluidic devices. *Journal of Biomechanics*, 2006, 12(2): 217
 - 16 Antonova N, Khristov K, Alexandrova A, et al. Development of experimental microfluidic device and methodology for assessing microrheological properties of blood. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 2023, 83: 231-245
 - 17 Fay ME, Myers DR, Kumar A, et al. Cellular softening mediates leukocyte demargination and trafficking, thereby increasing clinical blood counts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, 113(8): 1987-1992
 - 18 Ai JF, Xie J, Hu GH. Numerical simulation of red blood cells deformation in microchannel under zero-net-mass-flux jet. *Acta Physica Sinica*, 2020, 69(23): 234701
 - 19 Schaff UY, Xing MM, Lin KK, et al. Vascular mimetics based on microfluidics for imaging the leukocyte-endothelial inflammatory response. *Lab Chip*, 2007, 7(4): 448-456
 - 20 Li J, Lykotrafitis G, Dao M, et al. Cytoskeletal dynamics of human erythrocyte. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(12): 4937-4942
 - 21 An L, Ji F, Zhao E, et al. Measuring cell deformation by microfluidics. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, 12: 1214544
 - 22 Bianchi E, Molteni R, Pardi R, et al. Microfluidics for in vitro biomimetic shear stress-dependent leukocyte adhesion assays. *Journal of Biomechanics*, 2013, 46(2): 276-283
 - 23 Sebastian B, Dittrich PS. Microfluidics to mimic blood flow in health and disease. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 2018, 50(1): 483-504
 - 24 Kutlu H, Avci E, Özyurt F. White blood cells detection and classification based on regional convolutional neural networks. *Medical Hypotheses*, 2020, 135: 109472
 - 25 Song W, Jia P, Ren Y, et al. Engineering white blood cell membrane-camouflaged nanocarriers for inflammation-related therapeutics. *Bioactive Materials*, 2023, 23: 80-100
 - 26 Watts T, Barigou M, Nash GB. Comparative rheology of the adhesion of platelets and leukocytes from flowing blood: why are platelets so small? *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2013, 304(11): H1483-H1494
 - 27 Zhu S, Wu D, Han Y, et al. Inertial microfluidic cube for automatic and fast extraction of white blood cells from whole blood. *Lab on a Chip*, 2020, 20(2): 244-252
 - 28 Dahl KN, Engler AJ, Pajerowski JD, et al. Power-law rheology of isolated nuclei with deformation mapping of nuclear substructures. *Biophysical Journal*, 2005, 89(4): 2855-2864
 - 29 Gossett DR, Tse HT, Lee SA, et al. Hydrodynamic stretching of single cells for large population mechanical phenotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109(20): 7630-7635
 - 30 Wu HH, Zhou Y, Tabata Y, et al. Mesenchymal stem cell-based drug delivery strategy: from cells to biomimetic. *Journal of Controlled Release*, 2019, 294: 102-113
 - 31 Phinney DG, Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair—current views. *Stem Cells*, 2007, 25(11): 2896-2902
 - 32 Ankrum J, Karp JM. Mesenchymal stem cell therapy: Two steps forward, one step back. *Trends in Molecular Medicine*, 2010, 16(5): 203-209
 - 33 赵振礼, 蔡绍哲, 戴小珍. 微流控芯片在干细胞研究中的应用. *中国生物工程杂志*, 2011, 31 (3): 81-86 (Zhao Zhenli, Cai Shaoxi, Dai Xiaozhen. Application of microfluidic chips in stem cell research. *China Biotechnology*, 2011, 31(3): 81-86 (in Chinese))
 - 34 Teo GS, Ankrum JA, Martinelli R, et al. Mesenchymal stem cells transmigrate between and directly through tumor necrosis factor- α -activated endothelial cells via both leukocyte-like and novel mechanisms. *Stem Cells*, 2012, 30(11): 2472-2486
 - 35 Nitzsche F, Müller C, Lukomska B. Concise review: MSC adhesion cascade—insights into homing and transendothelial migration. *Stem Cells*, 2017, 35(6): 1446-1460
 - 36 Karp JM, Leng Teo GS. Mesenchymal stem cell homing: the devil is in the details. *Cell Stem Cell*, 2009, 4(3): 206-216

- 37 Gupta K, Kim DH, Ellison D, et al. Lab-on-a-chip devices as an emerging platform for stem cell biology. *Lab on a Chip*, 2010, 10(16): 2019-2031
- 38 Li X, Vlahovska PM, Karniadakis GE. Continuum- and particle-based modeling of shapes and dynamics of red blood cells in health and disease. *Soft Matter*, 2013, 9(1): 28-37
- 39 Yazdani A, Li X, Em Karniadakis G. Dynamic and rheological properties of soft biological cell suspensions. *Rheologica Acta*, 2015, 55(6): 433-449
- 40 Wang XL, Gong XB, Kazuyasu S, et al. An immersed boundary method for mass transfer through porous biomembranes under large deformations. *Journal of Computational Physics*, 2020, 413: 109444
- 41 Pozrikidis C. The axisymmetric deformation of a red blood cell in uniaxial straining Stokes flow. *Journal of Fluid Mechanics*, 2006, 216: 231-254
- 42 McWhirter JL, Noguchi H, Gompper G. Flow-induced clustering and alignment of vesicles and red blood cells in microcapillaries. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(15): 6039-6043
- 43 Ye T, Phan-Thien N, Lim CT, et al. Hybrid smoothed dissipative particle dynamics and immersed boundary method for simulation of red blood cells in flows. *Physical Review E*, 2017, 95(6): 063314
- 44 Ye T, Pan DY, Huang C, et al. Smoothed particle hydrodynamics (SPH) for complex fluid flows: Recent developments in methodology and applications. *Physics of Fluids*, 2019, 31(1): 011301
- 45 Kalukula Y, Stephens AD, Lammerding J, et al. Mechanics and functional consequences of nuclear deformations. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2022, 23(9): 583-602
- 46 Guo Q, Reiling SJ, Rohrbach P, et al. Microfluidic biomechanical assay for red blood cells parasitized by Plasmodium falciparum. *Lab on a Chip*, 2012, 12(6): 1143-1150
- 47 Li X, Du E, Dao M, et al. Patient-specific modeling of individual sickle cell behavior under transient hypoxia. *PLOS Computational Biology*, 2017, 13(3): e1005426
- 48 Embury SH. The not-so-simple process of sickle cell vasoocclusion. *Microcirculation*, 2010, 11(2): 101-113
- 49 Papageorgiou DP, Abidi SZ, Chang HY, et al. Simultaneous polymerization and adhesion under hypoxia in sickle cell disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2018, 115(38): 9473-9478
- 50 Bennett-Guerrero E, Veldman TH, Doctor A, et al. Evolution of adverse changes in stored RBCs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(43): 17063-17068
- 51 Berezina TL, Zaets SB, Morgan C, et al. Influence of storage on red blood cell rheological properties. *Journal of Surgical Research*, 2002, 102(1): 6-12
- 52 Matthews K, Myrand-Lapierre ME, Ang RR, et al. Microfluidic deformability analysis of the red cell storage lesion. *Journal of Biomechanics*, 2015, 48(15): 4065-4072
- 53 Huang YL, Segall JE, Wu M. Microfluidic modeling of the biophysical microenvironment in tumor cell invasion. *Lab on a Chip*, 2017, 17(19): 3221-3233
- 54 Zheng Y, Chen J, Cui T, et al. Characterization of red blood cell deformability change during blood storage. *Lab Chip*, 2014, 14(3): 577-583
- 55 Sakuma S, Kuroda K, Tsai CH, et al. Red blood cell fatigue evaluation based on the close-encountering point between extensibility and recoverability. *Lab on a Chip*, 2014, 14(6): 1135-1141
- 56 Qiang Y, Liu J, Dao M, et al. Mechanical fatigue of human red blood cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019, 116(40): 19828-19834
- 57 Pan Y, Li Y, Li Y, et al. Fatigue of red blood cells under periodic squeezes in ECMO. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2022, 119(49): e2210819119
- 58 George A, Pushkaran S, Konstantinidis DG, et al. Erythrocyte NADPH oxidase activity modulated by Rac GTPases, PKC, and plasma cytokines contributes to oxidative stress in sickle cell disease. *Blood*, 2013, 121(11): 2099-2107
- 59 Qiang Y, Liu J, Dao M, et al. In vitro assay for single-cell characterization of impaired deformability in red blood cells under recurrent episodes of hypoxia. *Lab on a Chip*, 2021, 21(18): 3458-3470
- 60 Pivkin IV, Peng Z, Karniadakis GE, et al. Biomechanics of red blood cells in human spleen and consequences for physiology and disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, 113(28): 7804-7809
- 61 Qi XJ, Wang S, Ma SH, et al. Quantitative prediction of flow dynamics and mechanical retention of surface-altered red blood cells through a splenic slit. *Physics of Fluids*, 2021, 33(5): 051902
- 62 Ma SH, Qi XJ, Han KQ, et al. Computational investigation of flow dynamics and mechanical retention of age-associated red blood cells in the spleen. *Physical Review Fluids*, 2023, 8(6): 063103
- 63 Li GS, Ye T, Li XJ. Parallel modeling of cell suspension flow in complex micro-networks with inflow/outflow boundary conditions. *Journal of Computational Physics*, 2020, 401: 109301
- 64 Freund JB. Numerical simulation of flowing blood cells. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 2014, 46(1): 67-95
- 65 Xiao LL, Lin CS, Chen S, et al. Effects of red blood cell aggregation on the blood flow in a symmetrical stenosed microvessel. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 2019, 19(1): 159-171
- 66 Ye T, Nhan PT, Khoo BC, et al. Dissipative particle dynamics simulations of deformation and aggregation of healthy and diseased red blood cells in a tube flow. *Physics of Fluids*, 2014, 26(11): 111902
- 67 Xia H, Strachan BC, Gifford SC, et al. A high-throughput microfluidic approach for 1000-fold leukocyte reduction of platelet-rich plasma. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 35943
- 68 Cheng SY, Heilman S, Wasserman M, et al. A hydrogel-based microfluidic device for the studies of directed cell migration. *Lab on a Chip*, 2007, 7(6): 763-769
- 69 Tsai M, Kita A, Leach J, et al. In vitro modeling of the microvascular occlusion and thrombosis that occur in hematologic diseases using microfluidic technology. *Journal of Clinical Investigation*, 2012, 122(1): 408-418
- 70 Messlinger S, Schmidt B, Noguchi H, et al. Dynamical regimes and hydrodynamic lift of viscous vesicles under shear. *Physical Review E*, 2009, 80(1): 011901
- 71 Fedosov DA, Fornleitner J, Gompper G. Margination of white blood cells in microcapillary flow. *Physical Review Letters*, 2012, 108(2): 028104
- 72 Freund JB. Leukocyte margination in a model microvessel. *Physics*

- of Fluids*, 2007, 19(2): 023301
- 73 Alapan Y, Bozuyuk U, Erkoç P, et al. Multifunctional surface microrollers for targeted cargo delivery in physiological blood flow. *Science Robotics*, 2020, 5: eaba5726
- 74 Qi XJ, Wang S, Ma SH, et al. Quantitative prediction of rolling dynamics of leukocyte-inspired microroller in blood flow. *Physics of Fluids*, 2021, 33(12): 121908
- 75 Toma C, Wagner WR, Bowry S, et al. Fate of culture-expanded mesenchymal stem cells in the microvasculature. *Circulation Research*, 2009, 104(3): 398-402
- 76 Chou TY, Sun YS, Hou HS, et al. Designing microfluidic devices for studying cellular responses under single or coexisting chemical/electrical/shear stress stimuli. *Journal of Visualized Experiments*, 2016, 13(114): 54397
- 77 Xavier M, Rosendahl P, Herbig M, et al. Mechanical phenotyping of primary human skeletal stem cells in heterogeneous populations by real-time deformability cytometry. *Integrative Biology*, 2016, 8(5): 616-623
- 78 Lipowsky HH, Bowers DT, Banik BL. Mesenchymal stem cell deformability and implications for microvascular sequestration. *Annals of Biomedical Engineering*, 2018, 46(4): 640-654
- 79 Ni F, Yu WM, Wang X, et al. Ptpn21 controls hematopoietic stem cell homeostasis and biomechanics. *Cell Stem Cell*, 2019, 24(4): 608-620
- 80 Hodgson AC, Verstreken CM, Fisher CL, et al. A microfluidic device for characterizing nuclear deformations. *Lab on a Chip*, 2017, 17(5): 805-813
- 81 Wolf K, Te Lindert M, Krause M, et al. Physical limits of cell migration: Control by ECM space and nuclear deformation and tuning by proteolysis and traction force. *Journal of Cell Biology*, 2013, 201(7): 1069-1084
- 82 Davidson PM, Fedorchak GR, Mondésert-Deveraux S, et al. High-throughput microfluidic micropipette aspiration device to probe time-scale dependent nuclear mechanics in intact cells. *Lab on a Chip*, 2019, 19(21): 3652-3663
- 83 Tong Z, Balzer EM, Dallas MR, et al. Chemotaxis of cell populations through confined spaces at single-cell resolution. *PLoS ONE*, 2012, 7(1): e29211
- 84 Davidson PM, Sliz J, Isermann P, et al. Design of a microfluidic device to quantify dynamic intra-nuclear deformation during cell migration through confining environments. *Integrative Biology*, 2015, 7(12): 1534-1546
- 85 Elacqua JJ, McGregor AL, Lammerding J. Automated analysis of cell migration and nuclear envelope rupture in confined environments. *PLoS One*, 2018, 13(4): e0195664
- 86 Wang H, Alarcón CN, Liu B, et al. Genetically engineered and enucleated human mesenchymal stromal cells for the targeted delivery of therapeutics to diseased tissue. *Nature Biomedical Engineering*, 2021, 6(7): 882-897
- 87 Qi X, Ma S, Jiang X, et al. Single-cell characterization of deformation and dynamics of mesenchymal stem cells in microfluidic systems: A computational study. *Physical Review E*, 2023, 108(5): 054402