



**Cytotoxicity
Data Mining Techniques
and Applications**

**细胞毒性数据挖掘
技术与应用**

■ 潘天红 陈 娇 著



科学出版社

细胞毒性数据挖掘技术与应用

潘天红 陈 娇 著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

实时细胞电子分析技术已广泛应用于细胞生物学、分子生物学、肿瘤学、生物化学、毒理学等多种学科领域,以及药物筛选、研发、生产及质量控制过程。本书系统地阐述了细胞毒性数据的数据挖掘技术与模式识别方法,共分6章,具体包括:细胞电阻抗传感技术、细胞毒性动力学模型参数估计方法、体外细胞毒性评价方法、化学物质 MoA 分类方法、细胞毒性数据的可靠性分析方法及低诱变细胞数目预测模型估计等。

本书可作为高等院校生物信息学科、数据挖掘学科研究生的参考用书,也可供从事细胞生物学、毒理学、食品安全、污染物风险评估工作的专业人员、科研人员和管理人员阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

细胞毒性数据挖掘技术与应用/潘天红,陈娇著. —北京:科学出版社, 2019.10

ISBN 978-7-03-062672-1

I. ①细… II. ①潘… ②陈… III. ①数据采集-应用-细胞-死亡-研究 IV. ①Q255-39

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2019)第 233647 号

责任编辑:李涪汁 曾佳佳/责任校对:杨聪敏

责任印制:张 伟/封面设计:许 瑞

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京建宏印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2019年10月第一版 开本:720×1000 1/16

2019年10月第一次印刷 印张:10 1/4

字数:200 000

定价:89.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

随着传感器技术、计算机技术、生物信息技术及检测技术的快速发展，人们往往可以轻松获取大量的、复杂连续的数据，如何处理这些复杂连续的数据，对传统的统计方法提出了挑战。

在受试物的作用下，细胞生理功能产生一系列的变化(细胞毒性)，其外在表现形式为细胞生长、伸展、形态变化、浸润及迁移、死亡和贴壁等，这些形态很大程度上与细胞株类型、受试物性质、浓度及暴露时间高度相关。细胞的这些生物学变化特性可以通过细胞电阻抗传感技术以高通量的形式捕获，并以时间序列的形式存储在计算机中。研究表明，体外细胞毒性与动物急性毒性死亡剂量之间具有高度相关性，已成为快捷、高效的药物筛选与评估手段。为此，面向细胞毒性数据的函数型特点，设计开发出新的数据挖掘与模式识别方法，已成为毒理学、药理学、食品安全、污染物风险评估等领域的研究热点。

《细胞毒性数据挖掘技术与应用》一书紧紧围绕细胞毒性数据的函数型分析方法展开描述。第1章总结了细胞电阻抗传感技术的原理及其发展历程，介绍了五种基于细胞电阻抗传感技术的典型仪器的特点；并以实时细胞分析仪(real-time cell analyzer, RTCA)为例，描述了无标记实时细胞分析技术应用领域；此外，还给出了RTCA的细胞毒性动态响应曲线(time-dependent cellular response curve, TCRC)预处理方法。第2章从化学物质的细胞毒性动力学方程出发，根据细胞毒性吸收及死亡机制，构建了细胞坏死与细胞凋亡两种细胞毒性动力学模型，结合带约束的非线性优化算法，给出该模型参数的估计方法。在此基础上，利用扩展卡尔曼滤波算法，借助RTCA细胞毒性数据，可实时估计出有毒物质作用于细胞株的浓度，极大地提前了风险预警时间。第3章根据化学物质细胞毒性响应曲线数据，基于传统的单一时间点，给出 LC_{50} / GI_{50} 细胞毒性的计算方法。此外，基于TCRC的特征，分别提出 AUC_{50} 与 KC_{50} 两种毒性指标及其计算方法。与此同时，分别建立三种方法的“剂量-反应”模型。在此基础上，将三种细胞毒性指标与美国RC(Registry of Cytotoxicity)数据库中的体内急性毒性值做相关性分析，比较各自的差异。第4章根据化学物质细胞毒性响应曲线形态，结合函数型数据分析技术与层次分类法，提出了一种基于细胞毒性作用模式(mode of action, MoA)的化学物质筛选与分类算法，在细胞层面上实现对化学物质的高通量筛选。第5

章对 E-Plate 的边缘效应与 E-Plate 的组内/组间重复性两个常见的 RTCA 实验问题,提出了相应的实验数据可靠性评估方法,并制定了可靠性评估标准。第 6 章利用细胞增殖 TCRC 的曲线特征,由细胞分裂的指数期和初始诱变细胞数目的关系,构建低数量级诱变细胞的预测模型,给出一种低数量级诱变细胞的高通量计数方法,可以用于基因毒性测试。

本书的研究起始于我在加拿大阿尔伯塔大学博士后期间所做的工作,在黄彪院士指导,以及团队成员 Swanand Khare、Fadi Ibrahim、Zhankun Xi、Aaron Cheung、Vignesh Devendran 共同努力下,围绕细胞毒性数据的函数型分析方法开展卓有成效的研究,同时也得到了加拿大阿尔伯塔省卫生署的 Stephan Gabos 博士、Weiping Zhang 博士,加拿大卡尔加里大学病毒中心的 David Kinniburgh 教授、Yu Dorohty Huang 博士,以及美国艾森生物科学公司的 Xiao Xu、Xiaobo Wang、Can Jin 等的指导与帮助,在此表示衷心的感谢。同时,我所指导的研究生陈娇、郭前、许开立、蒲天庆、陈英豪、李浩然等课题组成员也做了大量的工作,取得了较为丰富的研究成果,本书正是对这些成果的总结。本书初稿完成后,广州中医药大学胡晨霞教授审阅了全部内容,并提出了许多宝贵意见,在此表示衷心的感谢。

本书是我最近几年研究工作的结晶,希望本书的出版能够进一步推动体外细胞毒性试验的学术研究和技术开发。由于作者水平有限,书中难免有不当之处,恳请广大专家和读者批评指正,来函请发至邮箱 thpan@live.com。

潘天红

2019年3月30日

目 录

前言

第 1 章 细胞电阻抗传感技术概述	1
1.1 细胞电阻抗传感技术背景	2
1.1.1 细胞电阻抗传感技术简介	2
1.1.2 细胞电阻抗传感技术的意义	5
1.1.3 细胞电阻抗传感技术发展历程	5
1.2 基于细胞电阻抗传感技术的典型仪器	7
1.2.1 ECIS 细胞动态分析仪	7
1.2.2 Bionas 1500/2500 细胞代谢监测仪	10
1.2.3 CellKey 细胞介电谱分析系统	11
1.2.4 Cellasys 细胞代谢监测仪	12
1.2.5 RTCA 实时细胞分析仪	13
1.3 细胞电阻抗传感技术的应用	15
1.3.1 心肌细胞功能检测	15
1.3.2 细胞黏附和伸展	16
1.3.3 细胞共培养	18
1.3.4 细胞迁移和浸润	18
1.3.5 细胞毒性检测	19
1.4 RTCA 细胞毒性数据的预处理	21
参考文献	26
第 2 章 细胞毒性动力学模型参数估计方法	30
2.1 引言	30
2.2 细胞毒性动力学模型描述	31
2.3 算法原理及步骤	32
2.4 算法验证及结果	34
2.5 细胞毒性动力学模型应用	41
2.6 本章小结	44
参考文献	44

第3章 基于细胞毒性动态响应曲线的体外细胞毒性评价方法	46
3.1 引言	46
3.2 LC_{50}/GI_{50} 算法及步骤	47
3.3 AUC_{50} 算法及步骤	53
3.4 KC_{50} 算法及步骤	60
3.5 RC 预测模型的对比分析	66
3.6 结果与讨论	72
参考文献	75
第4章 基于细胞毒性动态响应曲线的化学物质 MoA 分类方法	79
4.1 引言	79
4.2 TCRC 数据预处理	82
4.3 算法原理及步骤	86
4.3.1 主成分分析	87
4.3.2 函数型数据分析	91
4.3.3 层次聚类算法	97
4.4 算法验证及结果	98
4.5 结果与讨论	101
参考文献	102
第5章 细胞毒性动态响应数据的可靠性分析方法	106
5.1 引言	106
5.2 边缘效应检测与筛选方法	108
5.2.1 问题描述	108
5.2.2 算法原理及步骤	108
5.2.3 算法验证及结果	115
5.3 RTCA 实验数据重复性评估方法	128
5.3.1 算法原理及步骤	128
5.3.2 算法验证及结果	132
5.4 本章小结	140
参考文献	140
第6章 基于细胞毒性动态响应曲线的诱变细胞数目预测模型估计	143
6.1 引言	143
6.2 诱变细胞数目预测模型估计方法	144

6.3 诱变细胞数目预测模型分析	149
6.4 本章小结	150
参考文献	150
附录	152

第 1 章 细胞电阻抗传感技术概述

随着现代科学技术特别是生物医学技术的快速发展,传统以生物活体为主的体内毒性试验方法,因其评测周期长、耗时、费力及伦理问题等缺点,已很难满足对有毒物质高通量筛选的需求^[1]。事实上,化学物质产生的损伤和死亡,最终可表现为细胞水平上的改变。根据欧洲标准化委员会 CEN 1992 年 30 号文件的定义,细胞毒性(cytotoxicity)是指由产品、材料及其浸渍物所造成的细胞死亡、细胞溶解和细胞生长抑制^[2]。有研究显示,化学物质体外细胞毒性与其引起的动物死亡率及人体死亡的血药浓度之间都存在良好的相关性^[3]。由此推测体外细胞毒性可以预测体内急性毒性,从而选择进行体内毒性实验最适宜的开始剂量,减少实验动物的使用^[4,5]。

细胞毒性按作用机制可分为三种类型^[4]:

(1) 基本细胞毒性,涉及一种或多种细胞结构或功能的改变,作用于所有类型的细胞;

(2) 选择细胞毒性,存在于某些分化细胞上,主要通过化学物质的生物转化,与特殊受体结合或特殊摄入机制而引发;

(3) 细胞特殊功能毒性,对细胞结构和功能损伤轻微,但对整个机体损伤非常严重。类似毒性作用可通过细胞因子、激素及递质的合成、释放、结合和降解影响细胞与细胞间的交流或特殊的转运过程而实现。

细胞毒性物质对细胞造成一系列破坏,细胞凋亡的过程很大程度上取决于细胞种类、化学物质的性质、浓度及化合物作用时间。这些化学物质改变了细胞贴附和形态,这些生物学变化特性可以通过电阻抗变化的方式展现出来,这样通过检测电阻抗变化观察细胞的生物学特性,从而评估细胞毒性大小^[6,7]。

细胞电阻抗传感技术(electric cell-substrate impedance sensing, ECIS)就是这样一种能够对贴壁生长细胞的形态进行实时、定量监测的独特方法,可在近似生理环境下,通过测量细胞和微电极之间电阻抗的变化来动态地记录细胞增殖、细胞毒性和细胞形态的变化^[8,9]。该项技术具备三大特点^[10]。

(1) 无损伤的细胞动态研究平台(不同于染色、标记);

(2) 实时定量地进行测量,实时获取数据;

(3) 实验结果具有高度可重复性,而传统方法对细胞动态行为多数只能采用

定性研究。

在基础生命科学研究方面,该技术可以用于研究细胞增殖与凋亡、细胞黏附、细胞分化及细胞迁移等。在药物研发方面,主要应用于药物筛选、药效评价、毒理学研究及肿瘤耐药性检测等。

1.1 细胞电阻抗传感技术背景

传统的生物化学检测方法,如基于细胞膜通透性改变的台盼蓝染色法、对细胞核染色的碘化丙啶法、测定细胞酶活性的 MTT 法、外加标记物法等,确定细胞的存活率时,有如下缺点^[11]:

- (1) 需要使用标记;
- (2) 与连续监测不相容(即仅产生终点数据);
- (3) 与正交试验不相容;
- (4) 无法提供客观、定量的数据。

细胞电阻抗传感技术(ECIS)则突破了这些技术的局限,它利用生物组织与器官的电特性及其变化规律,提取与人体生理、病理状况相关的生物医学信息^[12, 13]。在具体的实现过程中,通常是借助置于体表的电极系统向检测对象送入一个微小电流或电压,检测相应的电阻抗及其变化,然后根据不同的应用目的,获取相关的生理和病理信息^[14-16]。目前,生物电阻抗测量技术广泛应用在组织成分活性分析、电阻抗成像、细胞悬液研究以及皮肤诊断中^[17]。由于近二三十年的微制造技术的兴起,该技术开始被广泛运用于细胞相关的生物实验,从而促进了 ECIS 技术的发展。

1.1.1 细胞电阻抗传感技术简介

细胞电阻抗传感技术是细胞培养和阻抗检测技术的结合,在细胞培养过程中,细胞的黏附与伸展是黏附型细胞的基本生长过程。细胞黏附通常涉及大量的细胞与基底表面的相互作用,分为两个阶段,即被动黏附阶段和主动黏附阶段。在被动黏附阶段的起始,细胞的微绒毛与基底表面接触,形成的接触面积只有 $0.01\mu\text{m}^2$ 。几分钟后,成千上万的黏附受体与基底表面接触,形成几个平方微米的基础面积。随着细胞开始变得平坦,与表面的接触面积继续增大。接下来就进入细胞主动黏附阶段,与黏附相关的分子聚集到接触区域,使得黏附强度得到进一步增强,细胞开始在基底表面伸展开来之后,细胞骨架的重组不仅会使细胞膜表面粗糙度增加,还会使细胞形态由圆形变为多边形。为了配合以上的主动黏附过

程, 细胞体内的蛋白分子和离子会重新排列, 呈现不均匀分布, 这一变化称为细胞极化。极化后的细胞会伸出板状伪足, 与基底附着形成黏着斑。至此, 细胞在基底表面的黏附行为才算结束。如图 1.1 所示为细胞在基底表面的黏附过程示意图^[18]。

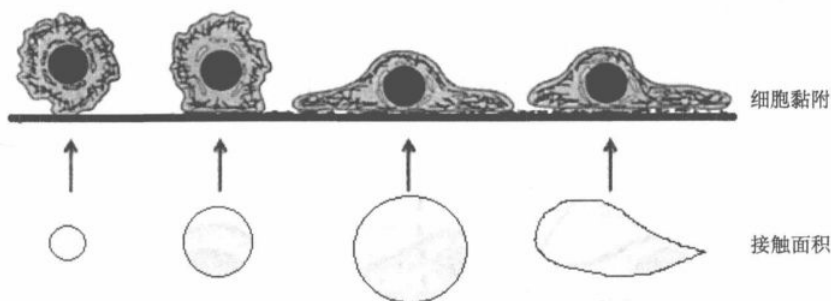


图 1.1 细胞在基底表面的黏附过程示意图

活细胞在与基底表面黏附过程中和黏附完成后, 表现出各种形式的运动。这些运动可分为三种基本形式: 细胞迁移、细胞形态变化、胞内细胞器运动。细胞迁移在癌细胞扩散中起到决定作用; 细胞形态变化发生于细胞黏附过程的后期, 即主动黏附阶段、细胞分裂成两个子细胞时以及细胞迁移时; 胞内细胞器的运动则时刻都在进行, 以配合完成各种细胞生理活动。

细胞电阻抗传感技术就是将平面电极阻抗测量技术应用于检测细胞形态变化, 通过检测细胞组织的电学过程, 从而获取传统方法无法获得的生理变化和细胞的隐藏信息。如图 1.2 所示为细胞阻抗测量原理示意图^[19]。检测系统采用电化学检测中的二电极系统, 将细胞培养在导电的工作电极上, 由培养液连接对电

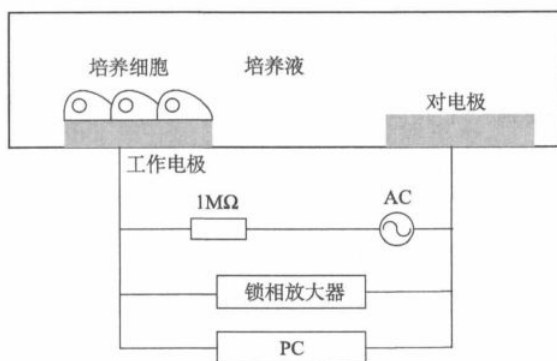


图 1.2 细胞阻抗测量原理示意图

极, 在对电极上施加激励信号, 在工作电极上检测到响应信号。工作电极和对电极均采用了电化学反应惰性较强的金电极, 其电阻率低, 因此对检测过程的影响以及对检测结果的贡献可以忽略^[20,21]。

细胞被磷脂双分子层构成的细胞膜包裹着, 使得细胞成为电的不良导体, 直流电会被细胞膜旁路。当施加一定频率的交流电时, 电流流经细胞就会受到一定阻碍, 原来可以直接流经电极表面的电极电流, 由于电极被培养生长在其表面的细胞所覆盖, 而最终只能从细胞侧面通过电阻间隙区域流过, 如图 1.3 所示^[21]。

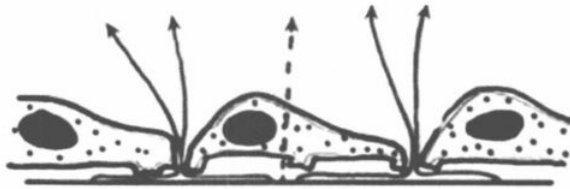


图 1.3 细胞对电极电流的阻碍作用示意图

这种阻碍反映在响应信号上就是电压变大或者电流变小, 总的结果是整个细胞电阻抗传感器的被测阻抗变大。也就是说, 细胞黏附到电极表面越多, 被测阻抗就越大。除了细胞黏附外, 细胞的迁移运动也会引起阻抗值的相应变化。由于施加的电压非常小, 电流非常微弱, 不会对细胞造成损伤, 所以阻抗检测可以贯穿细胞培养的整个过程。因此, ECIS 能够完整地记录黏附性细胞在基底表面的黏附和迁移运动的整个过程, 并且, 这些生命过程伴随着细胞的代谢调节及细胞形态和骨架的变化。

根据工作电极数目的不同, 细胞阻抗检测系统可以分为单电极体系和阵列电极体系。单电极是指阻抗检测系统只含有一个工作电极和一个对电极, 阵列电极体系包含多个工作电极, 其中可分为叉指电极和普通阵列电极。

叉指电极是阵列电极的一种特殊构型, 由多组大小一样、材质相同的条形电极并行排列, 并连接到一个共同的末端, 形成类似手指交叉的电极阵列结构^[22]。在叉指电极中, 电极的阻抗在总阻抗中所占比例相等, 不区分工作电极和对电极, 如图 1.4 (a) 所示。

普通阵列电极则含有多个通道, 每一个通道含一个工作电极, 这些工作电极相互独立, 共用一个对电极, 利用继电开关在各通道间切换, 可以实现多通道的同时测量, 如图 1.4 (b) 所示^[19]。

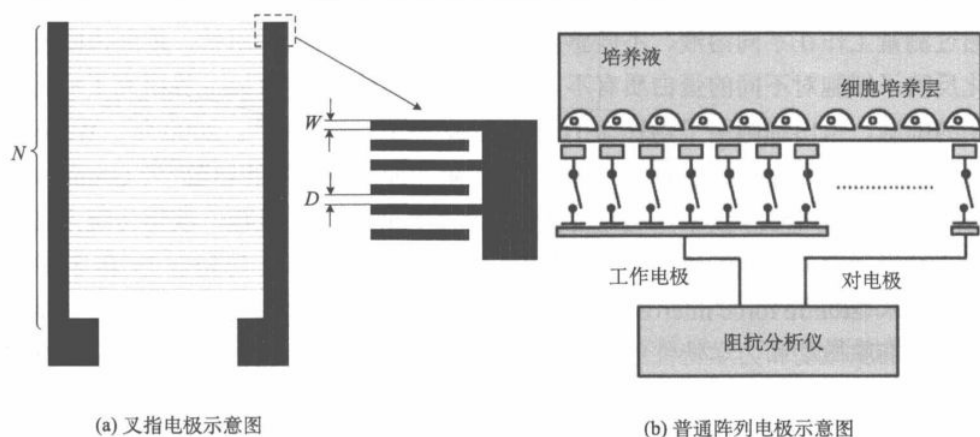


图 1.4 细胞阻抗检测系统

1.1.2 细胞电阻抗传感技术的意义

细胞电阻抗传感技术是一项对细胞无损伤，不需要生物标记就可以对细胞黏附和迁移运动进行实时和连续监测的现代技术。此外，细胞电阻抗传感技术对贴壁细胞在体内的生命过程有一定的模拟性，使得检测结果相较于传统方法具有更高的生物学价值。正是由于这些突出的优点和优势，在过去的二三十年里，有关细胞电阻抗传感技术的研究和应用得到了飞速发展，很好地弥补了传统分析方法，如 MTT、平板计数法、荧光染色等的不足。细胞电阻抗传感技术作为一种广受欢迎的细胞实验工具，可以用于监测细胞事件，如细胞在各种基底上的黏附和伸展、内皮细胞的屏障功能、细胞微动、细胞迁移和理化因素造成的细胞形态改变等，广泛应用在药理学、毒理学和细胞生物学等领域^[23-25]。

1.1.3 细胞电阻抗传感技术发展历程

细胞电阻抗传感技术原理由 1973 年诺贝尔物理学奖获得者 Giaever 教授及其同事 Keese 教授，从 1984 年开始，共同总结并发展至今。

1. 细胞黏附、伸展、形态和增殖检测方面

1984 年，Giaever 与 Keese 首次提出细胞电阻抗传感技术，他们将成纤维细胞培养在有小的金工作电极与对电极的培养皿中，测量工作电极与对电极之间的阻抗，结果证实电极所产生的阻抗变化能够反映细胞的黏附和伸展行为^[26]。1998 年，Keese 等更进一步探讨了电极上包裹不同的蛋白质与细胞黏附之间的关系。

通过测量工作在不同溶液、不同感测面积的条件下电极间的阻抗,推断出阻抗变化反映了细胞对不同的蛋白质有不同的响应^[27]。2004年,Keese等研究了哺乳动物的细胞,指出细胞层平均移动1nm就能被ECIS检测到^[28]。2000年,Wegener提出了高频电容是反映MDCK细胞早期黏附和伸展最灵敏的参数^[29]。Grimnes与Martinsen采用ECIS技术,通过检测细胞和组织的电化学过程,获得传统方法无法获得的生理变化和细胞的隐藏信息^[30]。2002年,Kataoka等结合ECIS和原子力显微术(atomic force microscopy, AFM)研究了单核细胞与内皮细胞相互作用对于内皮细胞微动和力学特性的影响^[31]。2003年,Huang等利用阻抗变化反映细胞膜完整性的细胞传感器芯片进行研究,用不同浓度的Triton X-100检测人体前列腺细胞系的细胞膜完整性损坏情况,检测到整个实验期内的细胞动力学过程^[32]。

2. 细胞迁移和浸润方面

1997年,Noiri等首次将电阻抗传感技术运用于伤口愈合试验。他们先在电极上施加一个直流电压,使附着在其上的细胞严重电穿孔死亡形成一个伤口^[33]。然而,这个直流电压较难控制,有可能会引起电极上的电化学反应而使测量变得不稳定。2004年,Keese等用高频交流信号代替直流电克服了上述缺点,这样形成的伤口大小仅限于微小的电极上,并且不会造成电极损坏,这种方法做出的结果比传统的伤口愈合试验具有更高的可重复性^[28]。

2008年,Wang等则通过在电极表面修饰形成排斥细胞贴附生长的SAMs膜,等到细胞在器件表面贴附生长稳定后,施加一个直流脉冲破坏SAMs来形成一个伤口,然后细胞便开始往电极上迁移,从而实现了对细胞迁移的实时监测^[34]。

McCoy和Wang利用ECIS检测了流行性感冒病毒A感染引起的细胞病变。一个健康的单层细胞被流感病毒A感染侵入,被感染细胞形态变圆并且脱附。可通过ECIS检测这些效应导致阻抗变化的情况^[35]。

3. 细胞-受体配体反应监测方面

目前研究已经表明基于阻抗的方法能够监测活细胞中受体特异性的激活。表达人组胺受体H1的CHOK1细胞和表达人加压素受体V1a的1321N1细胞分别用组胺和加压素刺激,阻抗测量曲线出现迅速而短暂的升高。细胞固定后用荧光标记,照片结果证实阻抗的变化与肌动蛋白细胞骨架和相关的蛋白的调节有关,此外,能够得到剂量依赖的曲线分析组胺受体激动剂和抑制剂。事实证明,基于阻抗的方法可以测量G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR)介导的肌动蛋白动态性和细胞形态学变化,可以成为研究受体介导的GPCR活化的一种很

有前景的工具。

4. 细胞毒性试验方面

Keese 等利用 ECIS 系统测试了成纤维细胞和上皮细胞毒素响应^[27]。在毒素测试中,有一些典型的具有细胞毒性的化合物,比如安替比林、敌百虫、二甲基甲酰胺和重铬酸钠及一些常见的毒素如 As(III)、BAK、TNB、CHX。ECIS 和 RT-CES 系统已经使用各种细胞来检验药物的毒性并给出时间响应曲线和剂量响应曲线。2002 年, Woolley 等应用由金电极制成的细胞阻抗传感器进行肿瘤药物的筛选过程,筛选出阿霉素、卡铂等对卵巢癌和乳腺癌等贴壁性细胞有响应的药物以及紫杉醇等无效药物^[36]。

与此同时,为了提高灵敏度、可重复性、生物相容性以及高通量检测,人们研究了不同的电极布局及若干 EGIS 新颖性设计方法^[37,38]。与此同时,通过广泛的细胞实验和数学建模方法,人们研究了细胞行为所引起的阻抗变化机制。

经过几十年的发展,细胞阻抗传感技术向小型化、高通量、多参数方向发展,结合其他新型传感器的开发,已广泛应用在药物分析、环境毒素监测等多个领域。

1.2 基于细胞电阻抗传感技术的典型仪器

ECIS 系统能够实时监测细胞生理状态,为实验提供了丰富的信息,由于 ECIS 技术的简单和有效,还催生了一个很大的生物仪器商业市场。以下列举几种典型的 ECIS 产品。

1.2.1 ECIS 细胞动态分析仪

由 Applied BioPhysics 公司开发的 ECIS 细胞动态分析仪^[39],是第一个商业化产品,它能够测量由细胞贴壁状态、位置、形态等方面发生的变化。将细胞添加到特殊电极板的微孔内,通过微电流传感器实时、定量、非介入性地测量细胞活性状态的改变,如图 1.5 所示^[39]。当细胞在电极上附着并且贴壁变化或者迁移时,这些变化被传输到仪器的检测端,该变化反映了细胞的一些特性改变,如形态学变化、贴壁能力、细胞迁移运动、细胞覆盖程度、细胞与基底空间等。

该产品的主要应用领域有如下方面。

(1) 细胞黏附和伸展:主要研究细胞伸展贴壁能力。如图 1.6 所示^[39],与 NRK 细胞相比,BCS 细胞有着更快的贴壁和生长速度。

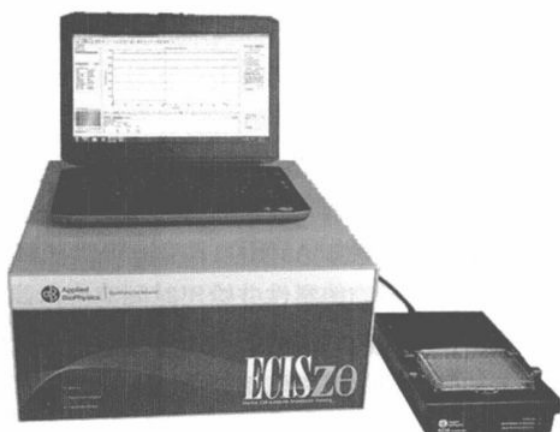


图 1.5 Applied BioPhysics 公司的 ECIS 细胞动态分析仪

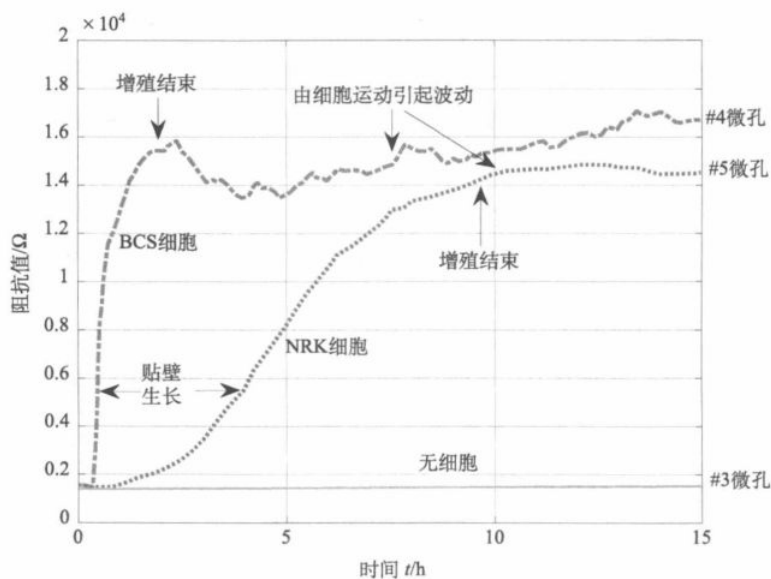


图 1.6 ECIS 的细胞黏附和伸展应用

(2)细胞损伤修复：当给予电极较强的瞬间电流时，测量电极上的细胞会被击穿、损伤，造成部分细胞死亡，ECIS 可以自动监测到由此产生的阻抗值下降，并随时间的延长，又回到初始值，即正常细胞向损伤区域迁移并重新生长以替换已死去细胞的整个过程，如图 1.7 所示^[39]。

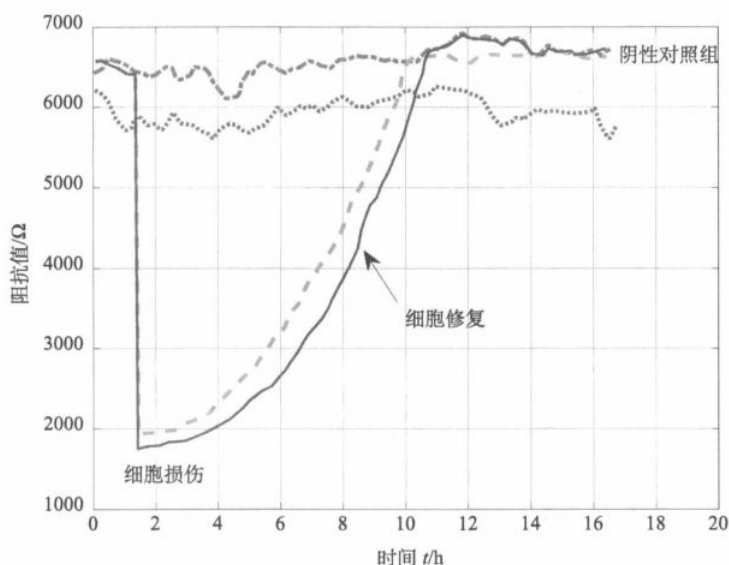


图 1.7 ECIS 的细胞损伤修复应用

(3) 肿瘤细胞侵袭: 当肿瘤细胞加入后, 正常细胞层的阻抗值开始降低, 这是由于肿瘤细胞的侵入影响了完整的正常细胞层。如图 1.8 所示^[39], 相比 G 细胞, AT3 细胞引起的阻抗值降低更加显著。

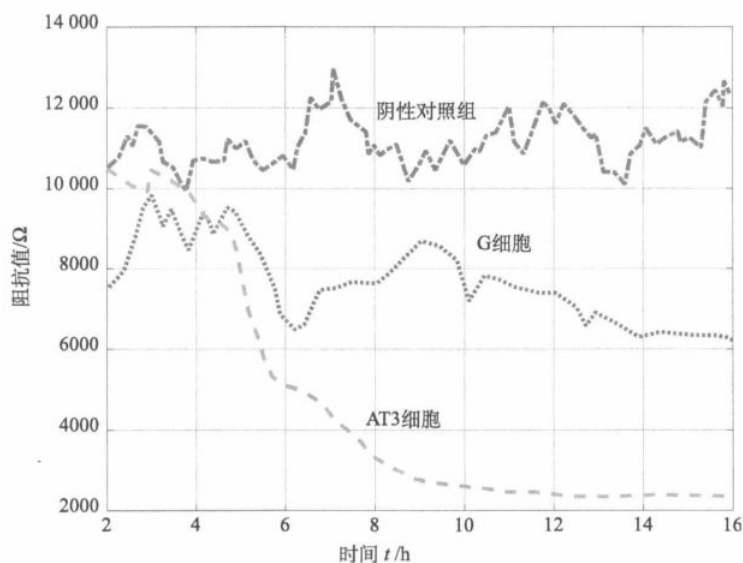


图 1.8 ECIS 的肿瘤细胞侵袭应用