



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng



Research
New Technology of Tumor Diagnosis and Treatment—Review

纤维基质——乳腺癌检测和治疗的新途径

Rasha Rezk^{a,b,#}, Raquel Marín-García^a, Annica K.B. Gad^{a,c,*}

^a Weston Park Cancer Centre, Department of Oncology and Metabolism, The Medical School, The University of Sheffield, Sheffield S10 2RX, United Kingdom

^b Department of Engineering, University of Cambridge, Cambridge CB2 1PZ, United Kingdom

^c Madeira Chemistry Research Center, University of Madeira, Funchal 9020105, Portugal

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 November 2020

Revised 28 February 2021

Accepted 27 April 2021

Available online 4 August 2021

关键词

乳腺癌

组织硬度

癌症转移

细胞迁移

生物工程支架

黏度

摘要

乳腺癌的特点是肿瘤细胞周围的蛋白纤维大量增加。这些纤维会提高组织的机械硬度,人们一直以来都是利用这一点并通过手动触诊来诊断肿瘤。最近的生物工程研究开发了新型生物材料,这些材料模拟了肿瘤微环境的力学特性和结构特性,可以用来了解这些特性如何调节乳腺癌的发展和扩散。本文概述了乳腺癌组织的力学特性与正常乳腺组织及非癌性病变组织的力学特性之间的差异,描述了生物材料模型是如何用于了解细胞外环境的硬度和黏度调节细胞迁移和乳腺癌转移的。此外,本文还强调了对生物材料模型的需求,这些模型可独立分析肿瘤微环境的单个和多个力学特性并利用肿瘤内不同区域的细胞,同时为进行乳腺癌转移新型机械疗法的开发提供了指导。

© 2021 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 引言

乳腺癌是全球第二常见的女性癌症。根据 GLOBOCAN 2018[†]的数据,2018年,全球乳腺癌新增病例数量超过 200 万例,死亡人数超过 626 000 人。死亡的主要原因是乳腺肿瘤转移到远处器官,进而造成器官功能障碍。为了转移,乳腺肿瘤细胞必须浸润周围的组织,迁移脱离原发肿瘤组织。细胞的这种运动能力由细胞对细胞外环境施加的力和细胞外微环境的力学特性驱动。细胞的这种运动能力可使其微环境变形和重组,而该环境的硬度可调节这些细胞力[1]。细胞在肿瘤中的空间位置也影响其迁移行

为[2]。了解细胞力调节局部细胞外环境的反馈机制,以及环境硬度如何调节细胞,将有助于更深入地了解乳腺癌的发生、发展和转移机制。

在健康和病理状态下,细胞外硬度、结构和组织结构对组织功能有深远的影响[3]。例如,这些特性在癌症发生和发展的过程中以及在细胞浸润和转移至远处部位的过程中都会发生变化[4]。Weaver 和他的同事[4]通过强调乳腺癌的这种力学原因,从而开创了乳腺癌研究领域。事实上,可以通过乳腺组织的硬化和张力平衡的进行性丧失来检测肿瘤[5]。此外,基于癌细胞物理特性的方法可以带来新的治疗策略,进而促进新诊断工具和癌症治疗的

* Corresponding author.

E-mail address: a.k.gad@sheffield.ac.uk (A.K.B. Gad).

These authors contributed equally to this work.

† <https://www.uicc.org/news/global-cancer-data-globocan-2018>.

2095-8099/© 2021 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

英文原文: Engineering 2021, 7(10): 1375–1380

引用本文: Rasha Rezk, Raquel Marín-García, Annica K.B. Gad. The Fibrillar Matrix: Novel Avenues for Breast Cancer Detection and Treatment. *Engineering*, <https://doi.org/10.1016/j.eng.2021.04.024>

发展[6]。

一些研究的重点是了解细胞外基质力学在乳腺癌浸润、扩散和治疗反应中的作用，通常采用基于生物工程三维（3D）材料的方法。本文中，我们描述了乳腺癌组织的力学特性和可用于模拟细胞对微环境硬度、密度和黏性的反应的3D材料的最新进展。我们进一步强调了将肿瘤和患者内部及之间的异质性纳入考虑的重要性，以便模拟肿瘤细胞和微环境之间的相互作用，指导进行新型机械抗癌疗法的开发。

2. 硬度作为乳腺癌的生物标志物

恶性乳腺组织比正常组织更硬[7]。人们一直以来都利用乳腺组织硬度大幅增加的特点来进行触诊诊断。乳腺癌是一种极具异质性的复杂疾病，拥有广泛的形态特征、免疫组化特性和独特的组织病理学亚型，所有亚型都有特异性临床病程和结局[8]。因此，这些不同的亚型可能具有不同且广泛的力学特性。浸润性导管癌是最常见的浸润性乳腺癌，占乳腺癌的50%以上[8-9]。根据肿瘤的起源部位，可将浸润癌和原位癌分为浸润性导管/小叶癌或者导管/小叶原位癌[8]。

为了说明乳腺癌组织与正常乳腺及非癌性病变组织之间的硬度差异，我们进行了系统的文献检索。表1 [7,10-15]提供了从发现并说明不同组织学类型的乳腺癌、正常乳腺组织和非恶性乳腺病变组织硬度范围的文献中选取的具有代表性的例子。分析组织硬度的方法包括原子力显微镜（AFM）和剪切波弹性成像（SWE），它们都用来区分浸润性肿瘤组织和非浸润性肿瘤组织。虽然硬度范围因使用方法而异，但很明显，无论是在体内还是在体外，乳腺癌组织都比各种正常组织和非癌性病变组织有更高的硬度。此外，研究数据表明，浸润癌的组织硬度比非浸润癌的高（表1）。

人体组织的硬度主要由细胞外基质的硬度决定，而细胞外基质是一种由胶原蛋白与其他细胞外基质蛋白质和分子组成的纤维状基质。这些成分的产生和（或）交联增加了组织的硬度和密度[16-17]，这与乳腺癌的发展有关[16, 18]。Provenzano等[19]表明，体内胶原蛋白密度的增加促进了乳腺肿瘤的发生和发展。他们还称，在肿瘤边界呈放射状排列而不是和肿瘤边界对齐的胶原纤维与肿瘤局部浸润之间存在很强的相关性[19]。而且，胶原纤维密度和排列的增加与不良预后有关，可作为这些患者的预后标志物[20]。然而，胶原蛋白的密度是否与预后有关尚不清楚。事实上，1996—2005年，在对9232名患有原发性浸润性

乳腺癌的女性进行的一项大型研究中，未能确定乳腺组织密度和乳腺癌死亡风险之间的任何相关性[21]。

在上述研究中，无法确定是胶原蛋白的数量和密度还是组织硬度本身调节了肿瘤浸润。为了确定组织硬度和肿瘤发展之间的关系，Fenner等[22]从乳腺癌小鼠模型上切除肿瘤，在体外分析新鲜切除的完整肿瘤的体积模量。与之前的研究不同，他们认为被切除的肿瘤的体积模量与随后的局部复发和转移之间存在明显的负相关；此外，他们指出肿瘤硬度与组织中胶原蛋白的数量相关。同样值得注意的是，Levental等[18]使用乳腺癌小鼠模型表明胶原蛋白交联的增加与肿瘤细胞浸润增加有关，其中胶原蛋白水平没有变化。总之，这些研究结果都强调了细胞外基质对细胞行为的影响。另外，研究人员还强调，应该将与肿瘤上皮组成表面有关的胶原蛋白密度、数量、排列、交联和空间结构考虑在内，以确定顺应性是否能用作乳腺癌的生物标志物。

3. 细胞外基质硬度和乳腺癌

为了了解细胞外基质的力学特性如何调节致癌细胞转化和肿瘤细胞浸润，需要在不改变化学组成或结构特性的情况下对这些特性进行检查。为此，开发了合成纤维材料、聚丙烯酰胺水凝胶和聚二甲基硅氧烷弹性体涂层基质。Chaudhuri等[23]表明，正常MCF10A乳腺上皮细胞在基质硬度增加后，拥有与致癌转化细胞相似的表型。这一研究结果与观察结果一致，即乳腺癌3D培养模型的基质硬度影响基因组的可及性并诱发恶性肿瘤[24]。

乳腺癌的生长和转移需要内皮细胞出芽和血管的形成。与上皮细胞相比，当内皮细胞暴露于甲基丙烯酰胺基明胶和胶原蛋白基质，且基质硬度增加、胶原蛋白密度不变时，内皮细胞表现出增殖、浸润和生长减少[25]。在同样的研究中，Berger等[25]指出，当胶原蛋白I浓度为 $1.5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $3.0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时，硬度增加会导致细胞出芽逐渐减少。在没有胶原蛋白的情况下，硬度促进细胞出芽，最高硬度为7 kPa；然而，当硬度高于这个数值时，细胞出芽减少，在达到12 kPa时，细胞出芽减少为0。

I型胶原蛋白可以影响细胞对组织硬度的反应，而Chaudhuri等[23]和Berger等[25]都强调了在任何给定硬度下考虑材料的化学成分的重要性。

根据这些观察结果，应该注意的是，细胞对力学特性的反应取决于所研究的细胞类型[10,26]。细胞外基质纤维的硬度调节各种细胞（比如转移性MDA-MB-231乳腺癌细胞、UM-SCC-74B鳞状细胞癌细胞、HT1080纤维肉瘤

表1 通过原子力显微镜、剪切波弹性成像和B超(B-US)分析来确定成人乳腺正常组织、良性病变和肿瘤组织的主要硬度特征的研究

Reference	Method	<i>In vivo/ex vivo</i>	Tissue types	Mean stiffness (kPa)	Stiffness range (kPa)
Acerbi et al., 2015 [7]	AFM	<i>Ex vivo</i>	Normal breast tissue	0.4	Up to 2–3; invasive
			Invasive ductal carcinoma	> 5	Core 1–2; invasive rim up to 10
Ansardamavandi et al., 2016 [12]	AFM	<i>Ex vivo</i>	Normal breast tissue		
			Cellular region	0.7	
			Fibrous/extracellular	16.05	
			Intermediate region containing ducts, fibers, lumens, fatty tissues	5.19	
			Grades 2 and 3 breast carcinomas		
			Cellular region	1.42	
			Fibrous/extracellular	14.45	
Berg et al., 2015 [13]	SWE	<i>In vivo</i>	Fibroadenomas	45	30–79
			Ductal carcinoma <i>in situ</i>	126	71–180
			Invasive lobular carcinomas	180	124–180
			Invasive ductal carcinoma	180	158–180
Chang et al., 2011 [11]	SWE	<i>In vivo</i>	Fibroadenomas	49.58 ± 43.51	5.89–192.51
			Ductal carcinoma <i>in situ</i>	117.75 ± 54.72	46.95–193.30
			Invasive lobular carcinoma	169.50 ± 61.06	107.63–283.84
			Invasive ductal carcinoma	157.50 ± 57.07	58.34–300.00
Suvannarerg et al., 2019 [14]	SWE	<i>In vivo</i>	Benign lesions	19.73	5.15–104.10
			Ductal carcinoma <i>in situ</i>	37.85	4.25–255.50
			Invasive lobular carcinoma	105.75	24.05–171.65
			Invasive ductal carcinoma	96.65	8.20–281.95
Rabin and Benech, 2019 [15]	B-US	<i>In vivo</i>	Normal breast tissue	24.7 ± 8.1	
			Invasive ductal carcinoma	98.1 ± 12.9	
Tian et al., 2017 [10]	SWE	<i>In vivo</i>	Benign lesions of fibroadenomas, fibroadenomatous hyperplasias, cystic hyperplasias, papillomas, adenosis, mammary duct ectasia, chronic inflammations, fat necrosis	78	48.0–110.7
			Invasive ductal carcinomas, ductal carcinomas <i>in situ</i> , mucinous carcinomas, invasive lobular carcinoma, intraductal papillary carcinomas	185.40	154.9–220.0

细胞和NIH3T3成纤维细胞)的迁移速度。然而,细胞迁移速度的最佳纤维硬度在不同细胞类型之间存在很大的差异[27]。基于实验数据的计算机建模表明,细胞在纤维硬度处于中等范围时迁移速度最大,而最大速度时的最佳硬度因细胞类型而异[26]。这个概念得到了Wang等[27]的支持。他们证明了当合成3D纤维的硬度最佳时,细胞迁移速度最大。值得注意的是,在这些纤维上观察到的迁移类型是“弹弓式”移动,而不是传统的间叶细胞样迁移。此外,最近的观察结果强调了一种可能性,即不是细胞外环境或三维纤维的硬度增加,而是纤维密度增加促进了癌症中经常观察到的基质细胞的变化[28–29]。综上所述,这

些观察结果都强调了确定给定基质组成的最佳硬度和特定细胞类型的维度的重要性。确定体内细胞迁移的最佳硬度及其调节的潜在分子机制,将可能确定浸润性肿瘤区域的相关生物标志物,从而有助于指导新型机械抗癌疗法的开发。

4. 乳腺癌组织黏性的影响

如上所述,最近的生物工程研究促使新型生物材料的发展,而这些材料可以用来模拟肿瘤微环境的弹性模量和结构。然而,我们体内的组织又与弹性体不完全一样;相反,它们既有黏性又有弹性。因此,考虑黏性等其他力学

特性很重要。

研究发现, 乳腺癌组织比良性病变组织更具黏性或更像液体[30], 这与观察结果一致, 即在乳腺癌组织中透明质酸(一种控制组织水含量的分子)的产生是上调的, 并与不良预后有关[31]。磁共振弹性成像显示, 恶性和良性乳腺肿瘤之间[30]以及胶质母细胞瘤和健康脑实质之间[32]的黏弹性存在显著差异。MCF-7乳腺癌细胞的黏性和弹性降低, 这表明乳腺癌细胞比相应的良性细胞更具流动性、“更软”[33]。使用MCF-10A、MCF-7和MDA-MB-231细胞进行研究, 进一步表明正常乳腺上皮细胞的黏性大于肿瘤细胞; 肿瘤细胞的肌动蛋白分布和较大的核质比是决定细胞黏性的两个主要因素[34]。肿瘤细胞转移取决于多种因素, 其中包括细胞外基质的重塑和细胞核变形的可能性[35–36]。然而, 应该注意的是, 在非常坚硬的基质上, 黏性对细胞附着和扩散几乎没有影响[37]。黏性在癌症细胞的扩散中起作用, 而观察结果也证实了这一观点——虽然癌细胞无法挤压和迁移通过非常坚硬的孔径环境[35,38], 但它们可迁移通过具有较强可塑性的纳米多孔基质[39]。

最近开发的水凝胶使调节与弹性模量无关的应力松弛或损耗模量成为可能[40,44]。多种类型的细胞对黏弹性基质有反应, 即使这些细胞比具有相同弹性模量的纯弹性基质更软[44]。例如, 成纤维细胞和癌细胞无法在弹性软凝胶上扩散; 然而, 它们能够通过 $\beta 1$ 整联蛋白受体、肌球蛋白和Rho在柔软的黏弹性凝胶上扩散, 表现出坚固的黏着斑和应力纤维, 并且增强转录调节蛋白YAP的激活。这与它们在坚硬和弹性基质上的表现相似[45]。3D培养物

中应力松弛增加促进细胞扩散、增殖和间充质干细胞的成骨分化[42]。这些观察结果与这一观察结果, 即黏性对细胞形态、附着、增殖及分化有深远的影响一致[43]。综上所述, 这些观察结果表明, 在了解肿瘤浸润和转移的调节时, 将黏性和弹性考虑在内很重要。

具有独立可调黏弹性的工程生物材料体外模型的出现, 为了解细胞行为和转移调节中细胞外基质力学的时间依赖性问题提供了新途径。此外, 这些模型为研究不同细胞外基质力学特性和大量细胞外蛋白对肿瘤发生发展的影响提供了一种有效的简化方法。例如, 化学成分明确的水凝胶和合成纤维可以通过胶原蛋白或纤连蛋白[44], 或者精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)多肽[28,45]功能化, 以研究弹性和黏性对细胞附着和运动的影响。表2[23,28,46,49]列出了可以用来研究细胞外基质力学特性对乳腺癌发生、发展影响的临床前生物材料体外模型的示例。

5. 肿瘤内机械异质性的影响

值得注意的是, 同样的生物材料模型对不同的细胞类型会产生不同的影响[27]; 而且, 来自不同患者的相同细胞类型对相同的硬度会有不同的反应[50–51]。因此, 在细胞水平上了解肿瘤之间和肿瘤内部的异质性可能是了解癌症发生、发展和治疗失败的关键。

上述大多数3D模型使用了永生细胞株, 其中许多细胞株都已在玻璃或塑料上培养了几十年。因此, 这些细胞株可能已经具有促进它们在非生理且非常坚硬的培养条

表2 临床前2D和3D体外生物材料癌症模型的示例, 包括模型、材料和细胞类型

Reference	2D or 3D model	Materials	Cells
Chaudhuri et al., 2014 [23]	Interpenetrating networks of alginate and reconstituted basement membrane matrix	Matrigel, alginate	MCF-10A cells
Chopra et al., 2014 [46]	Polyacrylamide gels	Polyacrylamide, fibronectin	Neonatal ventricular rat myocytes, human mesenchymal stem cells, 3T3 fibroblasts, human umbilical vein endothelial cells (HUVECs)
	Hyaluronan gels	Hyaluronan, fibronectin	
Baker et al., 2015 [28]	Synthetic fibrillar extracellular matrix	Methacrylated dextran	NIH 3T3 fibroblasts and human mesenchymal stem cells
Ranga et al., 2016 [47]	Hyaluronan gels	Polyethylene glycol, hyaluronan	MCF-7 mammary carcinoma cells and C2C12 mouse myoblast cells
Kleine-Brüggeny et al., 2019 [48]	3D hydrogel beads (microfluidic droplets used to compartmentalize single cells within a hydrogel matrix)	Agarose	Pluripotent mouse embryonic stem (mES) cells
Pavel et al., 2018 [49]	3D extracellular matrix	Rat collagen I, matrigel	MCF-10A cells

件下生长的特性。由此，这些细胞不应被视为患者体内真正的肿瘤细胞，并且它们对力学特性的反应可能会与体内肿瘤细胞的反应不同。研究显示，来自肿瘤内不同区域的胶质母细胞瘤细胞在标准化控制环境下显示出不同的力学特性，这进一步增加了肿瘤细胞异质性的复杂性以及这种异质性调节肿瘤发展和浸润的复杂性[50]。

一些观察结果表明，乳腺肿瘤的物质特性取决于肿瘤内的位置区域。例如，肿瘤的核心几乎与正常组织一样柔软，而边缘的浸润性组织较硬[7,52]。肿瘤内部异质性的原因尚不清楚。因此，在标准化条件下从不同肿瘤区域选取细胞样本并进行测试很重要。这样做将有助于研究人员了解肿瘤不同部分细胞之间的表型差异在多大程度上是由细胞类型本身差异造成的，又在多大程度上是由环境差异造成的[50]。

虽然肿瘤基质是肿瘤组织硬度的主要决定因素，但应该注意的是，肿瘤细胞、免疫细胞、癌症相关成纤维细胞、内皮细胞和坏死区也对组织的力学特性有一定的作用。已经观察到大多数具有较低迁移和浸润可能性的肿瘤细胞显示出比迁移和浸润肿瘤细胞高5倍的硬度[53]，这表明细胞硬度降低会促进迁移。在一项突破性的研究结果中，Kenny和Bissel [54]指出正常细胞外环境可以使致癌转化细胞恢复正常，这表明细胞外环境的表型可以覆盖细胞的恶性表型。因此，进一步说明了细胞特性在多大程度上是由于基因表达，又在多大程度上是由周围环境调节的问题。

综上所述，上述研究强调了分析不同致癌性转化分期细胞和标准化细胞外环境来自不同肿瘤区域的细胞的重要性，如利用具有明确力学、化学和空间特性的纤维。除了这种肿瘤内部的异质性外，还应考虑乳腺癌是一种异质性疾病，并且不同类型的乳腺癌具有不同的特征。

6. 确定用于分子诊断、患者预后和靶向治疗的生物标志物

能够模拟细胞外环境力学特性的材料使确定肿瘤细胞浸润所需的力学条件和这一调节的潜在分子机制成为可能。可以利用这些机制来开发新型生物标志物和分子靶点，而分子靶点可通过细胞力学调控来控制肿瘤浸润。Berger等[55]使用由甲基丙烯酸胺基明胶和胶原蛋白I组成的基质，以证明细胞浸入坚硬基质取决于细胞外蛋白纤连蛋白。他们的研究结果进一步表明，在浸润性乳腺癌细胞中过度表达的纤连蛋白结构域可促进体外细胞浸润[55]。因此，靶向这个纤连蛋白结构域是一种治疗策略。这一研究结果还可用来开发诊断策略，以确定肿瘤浸润性

更强且更需要积极疗法的患者。

如上所述，致癌转化恶性细胞的表型可通过其微环境的标准化恢复为更正常的表型[54]。因此，在理想的情况下，新开发的模型可以用来确定硬度和黏性条件[23]以及生理性胞外配体，而这些配体可使细胞的恶性表型恢复到更正常的表型。虽然这些模型为分离细胞外基质的力学特性和化学特性提供了极好的机会，但它们无法明确描述硬度是否以及如何调节乳腺癌的发展。我们猜测，本文中所述数据的相互矛盾是由于模型系统所使用的细胞类型和材料的化学组成不同。如前所述，目前乳腺癌模型存在的问题是它们主要依赖于永生肿瘤细胞株的使用，而这些细胞株不一定代表患者的肿瘤细胞。患者体内的细胞可能显示出不同的力学反应。除了使用分子和临床标记物对患者的乳腺癌细胞进行标准分类外，可根据乳腺癌细胞的力学特性进行分类，以提供更具个性化和特异性的诊断。更多的研究还会使研究人员了解旨在阻断整联蛋白受体的治疗为什么无法有效阻断细胞浸润，以及为治疗提供新的分子靶点。生物工程领域目前的挑战是去创造模拟乳腺癌组织的环境，使细胞的硬度、黏性和结构特性可相互独立调节，并且可适用于患者的各种细胞。

Acknowledgements

The authors would like to thank the Weston Park Cancer Centre (University of Sheffield, UK) the Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), the Portuguese Government (PEst-OE/QUI/UI0674/2013) and the Agência Regional para o Desenvolvimento da Investigação Tecnologia e Inovação (ARDITI), M1420-01-0145-FEDER-000005 Centro de Química da Madeira (CQM) (Madeira 14–20).

Compliance with ethics guidelines

Rasha Rezk, Raquel Marín-García, and Annica K. B. Gad declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

References

- [1] Discher DE, Janmey P, Wang YL. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate. *Science* 2005;310(5751):1139–43.
- [2] Heinrich MA, Alert R, LaChance JM, Zajdel TJ, Košmrlj A, Cohen DJ. Size-dependent patterns of cell proliferation and migration in freely-expanding epithelia. *eLife* 2020;9:e58945.
- [3] Northcott JM, Dean IS, Mouw JK, Weaver VM. Feeling stress: the mechanics of cancer progression and aggression. *Front Cell Dev Biol* 2018;6:17.

- [4] Kumar S, Weaver VM. Mechanics, malignancy, and metastasis: the force journey of a tumor cell. *Cancer Metastasis Rev* 2009;28(1-2):113-27.
- [5] Butcher DT, Alliston T, Weaver VM. A tense situation: forcing tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2009;9(2):108-22.
- [6] Michor F, Liphardt J, Ferrari M, Widom J. What does physics have to do with cancer? *Nat Rev Cancer* 2011;11(9):657-70.
- [7] Acerbi I, Cassereau L, Dean I, Shi Q, Au A, Park C, et al. Human breast cancer invasion and aggression correlates with ECM stiffening and immune cell infiltration. *Integr Biol* 2015;7(10):1120-34.
- [8] Makki J. Diversity of breast carcinoma: histological subtypes and clinical relevance. *Clin Med Insights Pathol* 2015;8:23-31.
- [9] Weigelt B, Reis-Filho JS. Histological and molecular types of breast cancer: is there a unifying taxonomy? *Nat Rev Clin Oncol* 2009;6(12):718-30.
- [10] Tian J, Liu Q, Wang X, Xing P, Yang Z, Wu C. Application of 3D and 2D quantitative shear wave elastography (SWE) to differentiate between benign and malignant breast masses. *Sci Rep* 2017;7(1):41216.
- [11] Chang JM, Moon WK, Cho N, Yi A, Koo HR, Han W, et al. Clinical application of shear wave elastography (SWE) in the diagnosis of benign and malignant breast diseases. *Breast Cancer Res Treat* 2011;129(1):89-97.
- [12] Ansardamavandi A, Tafazzoli-Shadpour M, Omidvar R, Jahanzad I. Quantification of effects of cancer on elastic properties of breast tissue by atomic force microscopy. *J Mech Behav Biomed Mater* 2016;60:234-42.
- [13] Berg WA, Mendelson EB, Cosgrove DO, Doré CJ, Gay J, Henry JP, et al. Quantitative maximum shear-wave stiffness of breast masses as a predictor of histopathologic severity. *AJR Am J Roentgenol* 2015;205(2):448-55.
- [14] Suvannareg V, Chitchumnong P, Apiwat W, Lertdamrongdej L, Tretipwanit N, Pisarnurakit P, et al. Diagnostic performance of qualitative and quantitative shear wave elastography in differentiating malignant from benign breast masses, and association with the histological prognostic factors. *Quant Imaging Med Surg* 2019;9(3):386-98.
- [15] Rabin C, Benech N. Quantitative breast elastography from B-mode images. *Med Phys* 2019;46(7):3001-12.
- [16] Barcus CE, Keely PJ, Eliceiri KW, Schuler LA. Stiff collagen matrices increase tumorigenic prolactin signaling in breast cancer cells. *J Biol Chem* 2013;288(18):12722-32.
- [17] Perepelyuk M, Terajima M, Wang AY, Georges PC, Janmey PA, Yamauchi M, et al. Hepatic stellate cells and portal fibroblasts are the major cellular sources of collagens and lysyl oxidases in normal liver and early after injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013;304(6):G605-14.
- [18] Levental KR, Yu H, Kass L, Lakins JN, Egeblad M, Erler JT, et al. Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling. *Cell* 2009;139(5):891-906.
- [19] Provenzano PP, Inman DR, Eliceiri KW, Knittel JG, Yan L, Rueden CT, et al. Collagen density promotes mammary tumor initiation and progression. *BMC Med* 2008;6(1):11.
- [20] Konklin MW, Eickhoff JC, Riching KM, Pehlke CA, Eliceiri KW, Provenzano PP, et al. Aligned collagen is a prognostic signature for survival in human breast carcinoma. *Am J Pathol* 2011;178(3):1221-32.
- [21] Gierach GL, Ichikawa L, Kerlikowske K, Brinton LA, Farhat GN, Vacek PM, et al. Relationship between mammographic density and breast cancer death in the Breast Cancer Surveillance Consortium. *J Natl Cancer Inst* 2012;104(16):1218-27.
- [22] Fenner J, Stacer AC, Winterroth F, Johnson TD, Luker KE, Luker GD. Macroscopic stiffness of breast tumors predicts metastasis. *Sci Rep* 2015;4(1):5512.
- [23] Chaudhuri O, Koshy ST, Branco da Cunha C, Shin JW, Verbeke CS, Allison KH, et al. Extracellular matrix stiffness and composition jointly regulate the induction of malignant phenotypes in mammary epithelium. *Nat Mater* 2014;13(10):970-8.
- [24] Stowers RS, Shcherbina A, Israeli J, Gruber JJ, Chang J, Nam S, et al. Matrix stiffness induces a tumorigenic phenotype in mammary epithelium through changes in chromatin accessibility. *Nat Biomed Eng* 2019;3(12):1009-19.
- [25] Berger AJ, Linsmeier KM, Kreeger PK, Masters KS. Decoupling the effects of stiffness and fiber density on cellular behaviors via an interpenetrating network of gelatin-methacrylate and collagen. *Biomaterials* 2017;141:125-35.
- [26] Bangasser B, Rosenfeld S, Odde D. Determinants of maximal force transmission in a motor-clutch model of cell traction in a compliant microenvironment. *Biophys J* 2013;105(3):581-92.
- [27] Wang WY, Davidson CD, Lin D, Baker BM. Actomyosin contractility-dependent matrix stretch and recoil induces rapid cell migration. *Nat Commun* 2019;10(1):1186.
- [28] Baker BM, Trappmann B, Wang WY, Sakar MS, Kim IL, Shenoy VB, et al. Cell-mediated fibre recruitment drives extracellular matrix mechanosensing in engineered fibrillar microenvironments. *Nat Mater* 2015;14(12):1262-8.
- [29] Matera DL, DiLillo KM, Smith MR, Davidson CD, Parikh R, Said M, et al. Microengineered 3D pulmonary interstitial mimetics highlight a critical role for matrix degradation in myofibroblast differentiation. *Sci Adv* 2020; 6(37): eabb5069.
- [30] Sinkus R, Siegmann K, Xydeas T, Tanter M, Claussen C, Fink M. MR elastography of breast lesions: understanding the solid/liquid duality can improve the specificity of contrast-enhanced MR mammography. *Magn Reson Med* 2007;58(6):1135-44.
- [31] Wu W, Chen L, Wang Y, Jin J, Xie X, Zhang J. Hyaluronic acid predicts poor prognosis in breast cancer patients. *Medicine* 2020;99(22):e20438.
- [32] Streitberger KJ, Sack I, Krefling D, Pfuller C, Braun J, Paul F, et al. Brain viscoelasticity alteration in chronic-progressive multiple sclerosis. *PLoS ONE* 2012;7(1):e29888.
- [33] Wang Y, Xu C, Jiang N, Zheng L, Zeng J, Qiu C, et al. Quantitative analysis of the cell-surface roughness and viscoelasticity for breast cancer cells discrimination using atomic force microscopy. *Scanning* 2016;38(6):558-63.
- [34] Nematbakhsh Y, Pang KT, Lim CT. Correlating the viscoelasticity of breast cancer cells with their malignancy. *Converg Sci Phys Oncol* 2017;3(3):034003.
- [35] Harada T, Swift J, Irianto J, Shin JW, Spinler KR, Athirasala A, et al. Nuclear lamin stiffness is a barrier to 3D migration, but softness can limit survival. *J Cell Biol* 2014;204(5):669-82.
- [36] Swift J, Discher DE. The nuclear lamina is mechano-responsive to ECM elasticity in mature tissue. *J Cell Sci* 2014;127(14):3005-15.
- [37] Gong Z, Szczesny SE, Caliri SR, Charrier EE, Chaudhuri O, Cao X, et al. Matching material and cellular timescales maximizes cell spreading on viscoelastic substrates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018;115(12):E2686-95.
- [38] Wolf K, Lindert MT, Krause M, Alexander S, Riet JT, Willis AL, et al. Physical limits of cell migration: control by ECM space and nuclear deformation and tuning by proteolysis and traction force. *J Cell Biol* 2013;201(7):1069-84.
- [39] Wisdom KM, Adebowale K, Chang J, Lee JY, Nam S, Desai R, et al. Matrix mechanical plasticity regulates cancer cell migration through confining microenvironments. *Nat Commun* 2018;9(1):4144.
- [40] Chaudhuri O, Cooper-White J, Janmey PA, Mooney DJ, Shenoy VB. Effects of extracellular matrix viscoelasticity on cellular behaviour. *Nature* 2020; 584(7822):535-46.
- [41] Chaudhuri O. Viscoelastic hydrogels for 3D cell culture. *Biomater Sci* 2017;5(8):1480-90.
- [42] Chaudhuri O, Gu L, Klumpers D, Darnell M, Bencherif SA, Weaver JC, et al. Hydrogels with tunable stress relaxation regulate stem cell fate and activity. *Nat Mater* 2016;15(3):326-34.
- [43] Cameron AR, Frith JE, Cooper-White JJ. The influence of substrate creep on mesenchymal stem cell behaviour and phenotype. *Biomaterials* 2011;32(26):5979-93.
- [44] Charrier EE, Pogoda K, Wells RG, Janmey PA. Control of cell morphology and differentiation by substrates with independently tunable elasticity and viscous dissipation. *Nat Commun* 2018;9(1):449.
- [45] Chaudhuri O, Gu L, Darnell M, Klumpers D, Bencherif SA, Weaver JC, et al. Substrate stress relaxation regulates cell spreading. *Nat Commun* 2015;6:6365.
- [46] Chopra R, Murray ME, Byfield FJ, Mendez MG, Hallelyuan R, Restle DJ, et al. Augmentation of integrin-mediated mechanotransduction by hyaluronic acid. *Biomaterials* 2014;35(1):71-82.
- [47] Ranga A, Lutolf MP, Hilborn J, Ossipov DA. Hyaluronic acid hydrogels formed *in situ* by transglutaminase-catalyzed reaction. *Biomacromolecules* 2016;17(5):1553-60.
- [48] Kleine-Brüggeny H, van Vliet LD, Mulas C, Gielen F, Agley CC, Silva JCR, et al. Long-term perfusion culture of monoclonal embryonic stem cells in 3D hydrogel beads for continuous optical analysis of differentiation. *Small* 2019;15(5):1804576.
- [49] Pavel M, Renna M, Park SJ, Menzies FM, Ricketts T, Füllgrabe J, et al. Contact inhibition controls cell survival and proliferation via YAP/TAZ-autophagy axis. *Nat Commun* 2018;9(1):2961.
- [50] Rezk R, Jia BZ, Wendler A, Dimov I, Watts C, Markaki AE, et al. Spatial heterogeneity of cell-matrix adhesive forces predicts human glioblastoma migration. *Neurooncol Adv* 2020;2(1):vdaa081.
- [51] Grundy TJ, De Leon E, Griffin KR, Stringer BW, Day BW, Fabry B, et al. Differential response of patient-derived primary glioblastoma cells to environmental stiffness. *Sci Rep* 2016;6(1):23353.
- [52] Plodinec M, Loparic M, Monnier CA, Obermann EC, Zanetti-Dallenbach R, Oertle P, et al. The nanomechanical signature of breast cancer. *Nat Nanotechnol* 2012;7(11):757-65.
- [53] Swaminathan V, Myhre K, O'Brien ET, Berchuck A, Blobe GC, Superfine R. Mechanical stiffness grades metastatic potential in patient tumor cells and in cancer cell lines. *Cancer Res* 2011;71(15):5075-80.
- [54] Kenny PA, Bissell MJ. Tumor reversion: correction of malignant behavior by microenvironmental cues. *Int J Cancer* 2003;107(5):688-95.
- [55] Berger AJ, Renner CM, Hale I, Yang X, Ponik SM, Weisman PS, et al. Scaffold stiffness influences breast cancer cell invasion via EGFR-linked Mena upregulation and matrix remodeling. *Matrix Biol* 2020;85-86:80-93.