

聚氨酯三维肺癌模型的建立及姜黄素药敏试验

王 晗¹, 黄逸伦², 朱 莲³, 张文元⁴, 唐 靚^{4*}

¹杭州医学院公共卫生学院, 浙江 杭州

²温州医科大学阿尔伯特学院, 浙江 温州

³杭州医学院基础医学与法医学院, 浙江 杭州

⁴杭州医学院检验医学院、生物工程学院, 浙江 杭州

收稿日期: 2024年12月6日; 录用日期: 2024年12月23日; 发布日期: 2025年2月12日

摘 要

目的: 通过聚氨酯构建三维(3D)肺癌模型, 并用于姜黄素药敏试验。方法: 聚氨酯泡沫支架经I型胶原表面修饰后种植A549细胞构建肺癌3D模型, 并进行姜黄素药敏试验。扫描电镜观察肺癌A549细胞生长情况。并均与2D培养下进行比较。结果: 姜黄素可抑制A549的生长, 浓度提高, 抑制加强, 呈剂量依赖性。3D培养条件下的细胞生长抑制率显著小于2D培养。结论: 与2D培养相比, 聚氨酯3D肺癌模型可能更好地模拟体内肺癌肿瘤微环境, 提高临床前药物研究的预测能力, 改善药物临床转化。

关键词

聚氨酯泡沫, 3D肺癌模型, 姜黄素, 药敏试验

Establishment of Three-Dimensional Polyurethane Model of Lung Cancer and Curcumin Susceptibility Test

Han Wang¹, Yilun Huang², Lian Zhu³, Wenyan Zhang⁴, Liang Tang^{4*}

¹School of Public Health, Hangzhou Medical College, Hangzhou Zhejiang

²Alberta Institute, Wenzhou Medical University, Wenzhou Zhejiang

³School of Basic Medicine and Forensic Medicine, Hangzhou Medical College, Hangzhou Zhejiang

⁴School of Laboratory Medicine and Bioengineering, Hangzhou Medical College, Hangzhou Zhejiang

Received: Dec. 6th, 2024; accepted: Dec. 23rd, 2024; published: Feb. 12th, 2025

*通讯作者。

文章引用: 王晗, 黄逸伦, 朱莲, 张文元, 唐靚. 聚氨酯三维肺癌模型的建立及姜黄素药敏试验[J]. 药物化学, 2025, 13(1): 11-18. DOI: 10.12677/hjmce.2025.131002

Abstract

Objective: To construct a three-dimensional (3D) lung cancer model by polyurethane and use it for curcumin drug sensitivity test. **Methods:** The 3D model of lung cancer was constructed by transplantation of A549 cells into polyurethane foam scaffolded with collagen type I surface modification, and curcumin susceptibility test was performed. The growth of lung cancer A549 cells was observed by scanning electron microscope. Then the results were compared with 2D culture. **Results:** Curcumin could inhibit the growth of A549. The concentration increased and the inhibition increased in a dose-dependent manner. The inhibition rate of 3D culture was significantly lower than that of 2D culture. **Conclusion:** Compared with 2D culture, polyurethane 3D lung cancer model may better simulate the microenvironment of lung cancer *in vivo*, and improve the predictive ability of preclinical drug studies, and improve the clinical transformation of drugs.

Keywords

Polyurethane Foam, 3D Lung Cancer Model, Curcumin, Drug Susceptibility Test

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肺癌是世界范围内最常见的癌症类型之一，其特点是预后差、生存率低，与诊断晚和缺乏有效治疗有关，这是一个挑战[1]。加强对肿瘤病理的理解和发展新的治疗方法是推进肺癌治疗的关键。2D 单层细胞培养，在肺癌研究中广泛使用了几十年。然而，由于物种差异和组织结构变化，这些方法在临床试验中经常遇到高失败率[2]。3D 肿瘤模型为基础研究和临床前方法提供了新的工具，为癌症研究提供了一个较为明确的环境，是了解肿瘤生长、治疗反应和营养物质/药物作用机制研究的重要实验工具[3]。并用于研究、创新和药物测试[4]。虽然癌症的治疗手段在过去几年中已经大大扩大，但严重的副作用和耐药性的发展阻碍了长期治疗的成功。因此，患者转向天然植物产品作为替代或补充治疗的选择。植物疗法是一种趋势，其结果指向其作为化学预防和辅助治疗的使用[5]。姜黄素是一种从姜黄中提取的天然多酚，是一种安全的生物活性植物化学物质，一种天然抗癌剂，是研究最广泛、定义最明确的化学预防植物的化学物质之一[6]，具有广泛的分子靶点和药理活性。在实验癌症模型中显示出化学预防作用。这些特性表明姜黄素有望成为癌症治疗的候选药物[7]。本实验以聚氨酯多孔泡沫海绵作为支架，接种肺癌 A549 细胞，构建 3D 肺癌模型，用于姜黄素药敏试验研究，并与 2D 培养进行比较。

2. 材料与方法

2.1. 药品与试剂

肺癌 A549 细胞(iCell); DMEM 高糖培养基(GIBCO); 胎牛血清(Procell); 鼠尾 I 型胶原(欣友生物技术有限公司, $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。姜黄素(上海玻尔), 先用少量冰乙酸溶解, 并 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜无菌过滤后, 再用完全培养基配制为工作浓度, 终浓度中的乙酸含量均 $<0.1\%$ 。48 孔细胞培养板(Corning); 聚氨酯泡沫(广州匹泰); 1%青霉素 - 链霉素双抗、CCK-8 试剂盒(碧云天)。CO₂ 培养箱(Thermo BB150), 倒置显微镜(IX73, Olympus)、多功能酶标仪(上海普丹)、扫描电镜(SU8010, Hitachi)。

2.2. 聚氨酯处理及 I 型胶原表面修饰

将聚氨酯泡沫材料修剪成直径 8 mm，高 2.5 mm 的圆柱体。分别经稀酸、稀碱浸泡处理后消毒。置于 48 孔培养板中，每孔 1 个支架。然后，于冰面上将 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 鼠尾 I 型胶原用无菌 $0.36 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸稀释到使用浓度 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，以 $50 \mu\text{L}$ 涂覆于每个聚氨酯泡沫支架上。放置 37°C 培养箱 20 min。随后再进行细胞接种。

2.3. 细胞培养及其悬液制备

肺癌 A549 细胞使用含 10% FBS、1%青霉素 - 链霉素双抗的 DMEM 高糖完全培养基于 37°C 、5% CO_2 培养箱中常规培养，以 0.25%胰蛋白酶消化、传代。收集对数期生长的 A549 细胞，配制成细胞悬液，进行如下药敏试验。

2.4. 药敏试验

2.4.1. 2D 药敏试验

配制 $3.75 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 A549 细胞悬液，取 $400 \mu\text{L}$ 加于 48 孔板·孔⁻¹，即 $1.5 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{孔}^{-1}$ ，培养 24 h，吸弃培养基。分别加入不同浓度的姜黄素(0 、 10 、 20 、 $40 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)， $400 \mu\text{L} \cdot \text{孔}^{-1}$ ，每个浓度设 3 个复孔，继续培养 48 h，倒置显微镜观察细胞生长情况，并进行 CCK-8 检测。

2.4.2. 3D 药敏试验

配制 $5 \times 10^5 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 A549 细胞悬液，取 $30 \mu\text{L}$ 缓慢加于“2.2 项”经 I 型胶原修饰的聚氨酯泡沫支架上， 37°C 培养箱放置 1 h，再加完全培养基 $370 \mu\text{L} \cdot \text{孔}^{-1}$ ，即 $1.5 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{孔}^{-1}$ 。培养 24 h，吸弃培养基。然后分别加入不同浓度(0 、 10 、 20 、 $40 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)的姜黄素， $400 \mu\text{L} \cdot \text{孔}^{-1}$ ，每个浓度设 5 个复孔。继续培养 48 h，其中 2 孔用来扫描电镜观察，3 孔进行 CCK-8 检测。

2.4.3. CCK-8 检测细胞抑制率

取上述 2D/3D 药敏试验的 48 孔板，更换培养基后，每孔加入 $40 \mu\text{L}$ CCK-8 反应溶液， 37°C 温育 3 h。每孔吸取 $100 \mu\text{L}$ 转移到 96 孔板中， 450 nm 处读取 OD 值，每个浓度均 3 个复孔。细胞抑制率 = $(1 - \text{实验组 OD 值} / \text{对照组 OD 值}) \times 100\%$ 。

2.5. 统计分析

使用 SPSS18.0 软件进行统计学分析处理。数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组间比较采用两独立样本 t 检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果与讨论

3.1. 聚氨酯泡沫的倒置显微镜观察

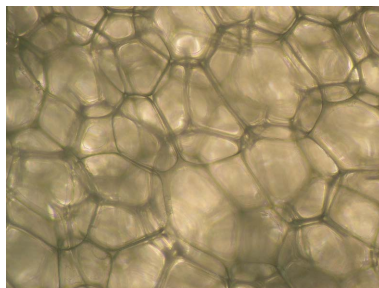


Figure 1. Observation of polyurethane foam under inverted microscope (100×)
图 1. 聚氨酯泡沫倒置显微镜观察(100×)

聚氨酯泡沫经过倒置显微镜观察, 孔径约 100~180 μm , 内部有大量相互贯穿的空间, 孔洞贯通性好(图 1)。

3.2. 2D 条件下姜黄素对 A549 细胞增殖的影响

在 2D 培养条件下, 当不同浓度的姜黄素培养 48 h 时, 随着姜黄素浓度的递增, A549 细胞生长受到抑制逐渐增加, 呈剂量依赖性。当姜黄素浓度于 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, A549 细胞生长受到一定程度的抑制。当姜黄素浓度于 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, A549 细胞生长抑制率超过 50%。于浓度 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, A549 细胞大量死亡。见图 2、表 1。

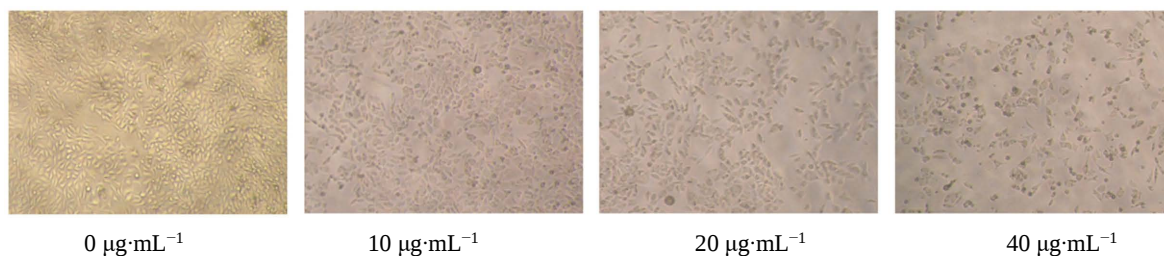


Figure 2. Effects of different doses of curcumin on the growth and proliferation of A549 cells under 2D culture conditions ($\times 100$)

图 2. 2D 培养条件下不同剂量的姜黄素对 A549 细胞生长增殖的影响($\times 100$)

肿瘤细胞 2D 培养模型由于操作简便, 反应灵敏, 观察分析快捷, 实验周期短等许多优点而成为目前的生物学和医学研究中最常用的一种细胞培养方式。2D 细胞培养即细胞在一个平面表面上生长, 是一种过度简单化并严重脱离机体生物学系统的培养方式, 无法模拟体内重要的肿瘤特征, 即缺氧、休眠、抗凋亡特征及其产生的耐药性[4], 缺乏肿瘤异质性和复杂性[8]。2D 细胞培养缺乏细胞与细胞、细胞与肿瘤微环境的接触及相互作用, 导致与真实肿瘤相比恶性程度显著降低, 对化疗药物过度敏感。使得药物抗癌活性往往被高估了, 许多被证明在临床上无效的药物, 在使用 2D 培养进行临床预评估时是“有效的”[9]。因此, 2D 细胞培养药敏试验结果往往不能有效地转化为体内临床前研究, 已越来越被认为是导致肿瘤耐药、肿瘤恶化及抗癌失败的主要因素。

3.3. 3D 条件下姜黄素对 A549 细胞生长的影响

在 3D 培养条件下, 当不同浓度的姜黄素培养 48 h 时, 随着姜黄素浓度的递增, A549 细胞生长受到抑制逐渐增加, 呈剂量依赖性。3D 培养条件下细胞生长抑制率显著小于 2D 培养。见图 3、表 1。

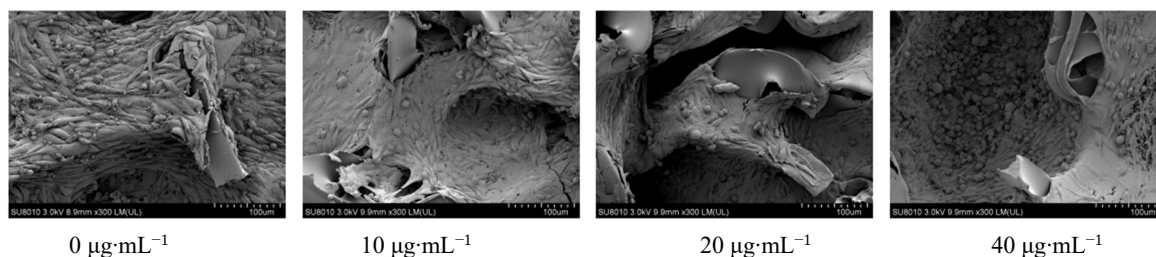


Figure 3. Effects of different doses of curcumin on the growth and proliferation of A549 cells under 3D culture conditions ($\times 300$)

图 3. 3D 培养条件下不同剂量的姜黄素对 A549 细胞生长增殖的影响($\times 300$)

图 3 表明, 不同浓度姜黄素对 3D 培养条件下 A549 细胞增殖活性, 随着药物姜黄素浓度的递增,

A549 活细胞数量逐渐减少,死细胞数量逐渐增多。结果显示当姜黄素 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, A549 细胞生长稍有抑制。当姜黄素 $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, A549 生长受到一定程度的抑制。当姜黄素浓度 $40\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 作用时, A549 生长受到较明显的抑制,死亡细胞数量增多较明显。这 3 个姜黄素浓度的细胞生长抑制率均 $<50\%$ 。见图 3、表 1。

结果表明,在 2D/3D 条件下,随着姜黄素浓度的递增, A549 细胞生长受到抑制逐渐增加,呈剂量依赖性。不同浓度的姜黄素在 3D 培养条件下对肺癌 A549 细胞生长的抑制率显著低于 2D 培养。表明 3D 细胞培养的耐药性显著高于 2D 培养。见图 2、图 3、表 1。

Table 1. Inhibitory rates of curcumin at different concentrations on A549 cells under 2D/3D culture conditions ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)
表 1. 2D/3D 培养条件下不同浓度姜黄素对 A549 细胞生长的抑制率($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

姜黄素剂量($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	2D 培养细胞抑制率(%)	3D 培养细胞抑制率(%)
10	38.06 ± 4.43	$14.74 \pm 1.25^*$
20	65.54 ± 5.67	$28.36 \pm 2.33^*$
40	84.73 ± 6.90	$40.93 \pm 4.59^*$

*: 与 2D 培养细胞生长抑制率相比, $P < 0.001$ 。

与 2D 平面培养相比, 3D 培养的额外维度导致细胞活性的差异, 包括形态, 增殖, 基因和蛋白质表达。能更真实地模拟体内肿瘤的结构形态及细胞分化功能, 使其对药物治疗的反应更接近体内真实情况, 便于对候选药物的功效和安全性进行临床前评估。与 2D 单层细胞相比, 3D 培养细胞间有紧密连接、中间连接和桥粒等细胞连接结构, 表明细胞间的相互作用有明显增强[10]。具有更强的抗辐射和抗化学活性能力, 增加了对细胞凋亡的抗性[11]。因此癌细胞 3D 结构能更好地反映体内肿瘤的生长和发育情况, 是一种更接近体内癌细胞病变特性的肿瘤模型[12]。其对肿瘤学研究、癌症个体化治疗和抗癌药物研发等都会产生重要的促进作用[13]。事实上, 越来越多的癌症研究正在利用 3D 培养模型, 并且观察到许多与传统 2D 模型明显不同的反应。3D 细胞培养允许细胞与基质之间的相互作用, 能更好地模拟肿瘤在体内的真实环境, 从而获得对药物疗效的真实评估[14]。3D 细胞培养对药物的抵抗力增强, 可更准确地反映候选药物的效果。表明维度对化疗药物有效性起重要作用。

肺癌是最常见的恶性肿瘤, 也是癌症相关死亡的主要原因。癌症生物学在揭示癌症进展机制方面取得了进展, 但大多数结果仍然是通过 2D 细胞培养或动物模型获得的, 它们不能忠实地复制肿瘤微环境。实验动物体内模型由于缺乏人类细胞、基质及功能性免疫系统, 它们往往不能准确地代表临床情况。而且受到可重复性低和伦理问题的影响, 并不是癌症药物研发的最佳选择[3]。然而, 完全模拟肿瘤异质性的 3D 肿瘤模型仍远未实现[15]。下一代 3D 模型的目标是如何更好地模拟人类癌症模型, 揭示肿瘤微环境对细胞分化、增殖、凋亡和基因表达的影响[16]。应用这些标准化的创新模型可使癌症药物的开发在不久的将来更加成功、高效, 从而可以产生具有巨大的成本效益[17], 并引起了制药公司的兴趣。在过去的十年中, 各种类型癌症的 3D 模型的发展出现了惊人的增长。然而, 能够研究新出现特征的 3D 模型很少, 而且尚未得到充分开发。更相关的体外细胞培养 3D 模型密切模仿肿瘤生物学并提供更好的抗癌治疗预测信息已成为人们关注的焦点。

目前, 已经提出了几种基于支架的体外 3D 模型来概括不同身体部位转移的发展, 但是, 关键的挑战仍然是在物理、机械和生物特性方面正确地模拟要建模的组织。有研究证明了多孔聚氨酯泡沫的适用性, 使用适当的配方合成, 模拟骨组织微环境和人类肺癌的转移性定植, 特别是证明了转移性扩散对骨细胞外基质的破坏性影响[18]。建立体外三维(3D)模型其支架非常重要, 支架要具备良好的细胞相容性, 多孔

的网状结构,以及良好的力学性能。而这一切正是聚氨酯多孔泡沫材料所具备的[19],为细胞提供了生存的三维空间。有利于组织细胞的粘附、分化和生长,促使细胞长入孔隙内部[20]。并且孔壁上存在与相邻泡孔相连通的,泡孔之间相互连接贯通,泡孔比较均匀,连续性较好[19]。表明材料的生物相容性良好,能为细胞提供一个模拟天然状态的生长环境,以供其贴附、生长、增殖和分化,允许在体外再现一个生动的体内肿瘤微环境,可以在不同的转移条件下评估癌细胞的生物学行为[21][22]。有研究表明基于聚氨酯支架的3D肺癌模型可以更好地模拟肿瘤在体内的生长、微环境和药物反应。这种新兴的3D培养系统有望缩短个体化治疗周期,减少动物使用,同时为临床试验提供有效的实验研究数据[23]。本实验采用三维多孔聚氨酯支架,并涂覆鼠尾I型胶原,以模拟细胞外基质。该3D支架可以支持肺癌A549细胞的增殖,鼠尾I型胶原的存在增强了肺癌细胞的粘附和增殖。

癌症是世界上第二大死亡原因,也是主要的公共卫生问题之一。尽管癌症治疗取得了巨大进步,但癌症的发病率和死亡率仍然很高。因此,寻求更有效、毒性更小的癌症治疗策略仍然是当前研究的前沿。姜黄素在过去的二十年中受到了广泛的关注[24]。姜黄素是从姜黄根茎中分离出来的一种活性、无毒的酚类化合物,已被广泛研究并证实具有广泛的治疗特性,特别是抗癌活性[25],是目前研究最多的化学预防药物之一。近半个世纪以来的广泛研究表明,姜黄素可以抑制各种肿瘤细胞的增殖,诱导癌细胞凋亡,防止多药耐药,辅助化疗。可对细胞凋亡、肿瘤增殖、化疗和放疗增敏、肿瘤侵袭和转移等多种生物学途径的影响而被广泛研究。已被证明可以同时调节多种细胞信号传导途径,从而减轻或预防多种不同类型的癌症[26]。75%的肺癌出现在晚期,现有的治疗方法不是很有效,可能导致巨大的患者发病率。因此,人们对开发辅助化疗非常感兴趣,以增加目前可用的治疗方案,这可能会减少副作用和毒性,而不会影响治疗效果。姜黄素就是这样一个潜在的候选者[27],是一种天然化合物,也是目前研究最多的化学预防药物之一。近半个世纪以来的广泛研究表明,姜黄素可以抑制培养的各种肿瘤细胞的增殖[28][29]。

4. 结论

本实验结果表明,在2D/3D条件下,随着姜黄素浓度的递增,A549细胞生长受到抑制逐渐增加,呈剂量依赖性。不同浓度的姜黄素在3D培养条件下对肺癌A549细胞的抑制率显著低于2D培养。即3D细胞培养的耐药性显著高于2D培养,也即3D细胞培养的药敏性显著低于2D培养。相比于2D培养,使用聚氨酯泡沫支架种植A549细胞构建的肺癌模型,可能更好地模拟体内肺癌肿瘤微环境,更接近肺癌患者体内真实情况。表明仿生多孔聚氨酯支架在肺癌的体外药敏试验研究中具有一定的潜力,包括药物和治疗筛选。可以提高临床前药物研究的预测能力,改善药物临床转化。结果也表明维度对化疗药物有效性起重要作用。

基金项目

浙江省中医药科技计划项目(2022ZB224, 2023ZL358);杭州医学院高校基本科研业务费基础科研项目(KYYB202103);浙江省医药卫生科技计划项目(2022KY730)。

参考文献

- [1] Lelli, D., Pedone, C., Majeed, M. and Sahebkar, A. (2017) Curcumin and Lung Cancer: The Role of MicroRNAs. *Current Pharmaceutical Design*, **23**, 3440-3444. <https://doi.org/10.2174/1381612823666170109144818>
- [2] Tzeng, Y.T., Hsiao, J., Tseng, L., Hou, M. and Li, C. (2023) Breast Cancer Organoids Derived from Patients: A Platform for Tailored Drug Screening. *Biochemical Pharmacology*, **217**, Article 115803. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115803>
- [3] Bhattacharya, A., Alam, K., Roy, N.S., Kaur, K., Kaity, S., Ravichandiran, V., et al. (2023) Exploring the Interaction between Extracellular Matrix Components in a 3D Organoid Disease Model to Replicate the Pathophysiology of Breast

- Cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **42**, Article No. 343. <https://doi.org/10.1186/s13046-023-02926-4>
- [4] Imamura, Y., Mukohara, T., Shimono, Y., Funakoshi, Y., Chayahara, N., Toyoda, M., *et al.* (2015) Comparison of 2D- and 3D-Culture Models as Drug-Testing Platforms in Breast Cancer. *Oncology Reports*, **33**, 1837-1843. <https://doi.org/10.3892/or.2015.3767>
 - [5] Soflaei, S.S., Momtazi-Borojeni, A.A., Majeed, M., Derosa, G., Maffioli, P. and Sahebkar, A. (2018) Curcumin: A Natural Pan-HDAC Inhibitor in Cancer. *Current Pharmaceutical Design*, **24**, 123-129. <https://doi.org/10.2174/1381612823666171114165051>
 - [6] Surh, Y. and Chun, K. (n.d.) Cancer Chemopreventive Effects of Curcumin. In: Aggarwal, B.B., Surh, Y.J. and Shishodia, S., Eds., *The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*, Springer, 149-172. https://doi.org/10.1007/978-0-387-46401-5_5
 - [7] Ranjan, A.P., Mukerjee, A., Gdowski, A., Helson, L., Bouchard, A., Majeed, M., *et al.* (2016) Curcumin-ER Prolonged Subcutaneous Delivery for the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, **12**, 679-688. <https://doi.org/10.1166/jbn.2016.2207>
 - [8] de Hoogt, R., Estrada, M.F., Vidic, S., Davies, E.J., Osswald, A., Barbier, M., *et al.* (2017) Protocols and Characterization Data for 2D, 3D, and Slice-Based Tumor Models from the PREDECT Project. *Scientific Data*, **4**, Article No. 170170. <https://doi.org/10.1038/sdata.2017.170>
 - [9] Barros, A.S., Costa, E.C., Nunes, A.S., de Melo-Diogo, D. and Correia, I.J. (2018) Comparative Study of the Therapeutic Effect of Doxorubicin and Resveratrol Combination on 2D and 3D (Spheroids) Cell Culture Models. *International Journal of Pharmaceutics*, **551**, 76-83. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.09.016>
 - [10] Zschenker, O., Streichert, T., Hehlhans, S. and Cordes, N. (2012) Genome-Wide Gene Expression Analysis in Cancer Cells Reveals 3D Growth to Affect ECM and Processes Associated with Cell Adhesion but Not DNA Repair. *PLOS ONE*, **7**, e34279. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034279>
 - [11] Pradhan, S., Clary, J.M., Seliktar, D. and Lipke, E.A. (2017) A Three-Dimensional Spheroidal Cancer Model Based on Peg-Fibrinogen Hydrogel Microspheres. *Biomaterials*, **115**, 141-154. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.10.052>
 - [12] Shafiee, A. and Atala, A. (2016) Printing Technologies for Medical Applications. *Trends in Molecular Medicine*, **22**, 254-265. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.01.003>
 - [13] Ghaemmaghami, A.M., Hancock, M.J., Harrington, H., Kaji, H. and Khademhosseini, A. (2012) Biomimetic Tissues on a Chip for Drug Discovery. *Drug Discovery Today*, **17**, 173-181. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.10.029>
 - [14] Li, Y. and Kilian, K.A. (2015) Bridging the Gap: From 2D Cell Culture to 3D Microengineered Extracellular Matrices. *Advanced Healthcare Materials*, **4**, 2780-2796. <https://doi.org/10.1002/adhm.201500427>
 - [15] Brancato, V., Gioiella, F., Imparato, G., Guarnieri, D., Urciuolo, F. and Netti, P.A. (2018) 3D Breast Cancer Microtissue Reveals the Role of Tumor Microenvironment on the Transport and Efficacy of Free-Doxorubicin *in vitro*. *Acta Biomaterialia*, **75**, 200-212. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.05.055>
 - [16] Huerta-Reyes, M. and Aguilar-Rojas, A. (2021) Three-Dimensional Models to Study Breast Cancer (Review). *International Journal of Oncology*, **58**, 331-343. <https://doi.org/10.3892/ijo.2021.5176>
 - [17] Milone, M.R., Pucci, B., Bruzzese, F., Carbone, C., Piro, G., Costantini, S., *et al.* (2013) Acquired Resistance to Zoledronic Acid and the Parallel Acquisition of an Aggressive Phenotype Are Mediated by P38-Map Kinase Activation in Prostate Cancer Cells. *Cell Death & Disease*, **4**, e641-e641. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.165>
 - [18] Yang, X., Gao, Y., Liu, Q., Wan, L., Liu, H., Bian, W., *et al.* (2020) Zoledronic Acid Re-Sensitises Gefitinib-Resistant Lung Cancer Cells by Inhibiting the JAK/STAT3 Signalling Pathway and Reversing Epithelial-Mesenchymal Transition. *Oncology Reports*, **45**, 459-468. <https://doi.org/10.3892/or.2020.7881>
 - [19] Pereira, L.X., Viana, C.T.R., Orellano, L.A.A., Almeida, S.A., Vasconcelos, A.C., de Miranda Goes, A., *et al.* (2017) Synthetic Matrix of Polyether-Polyurethane as a Biological Platform for Pancreatic Regeneration. *Life Sciences*, **176**, 67-74. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.03.015>
 - [20] Shahrousvand, M., Sadeghi, G.M.M., Shahrousvand, E., Ghollasi, M. and Salimi, A. (2017) Superficial Physicochemical Properties of Polyurethane Biomaterials as Osteogenic Regulators in Human Mesenchymal Stem Cells Fates. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **156**, 292-304. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.04.059>
 - [21] Totti, S., Allenby, M.C., Dos Santos, S.B., Mantalaris, A. and Vellio, E.G. (2018) A 3D Bioinspired Highly Porous Polymeric Scaffolding System for *in Vitro* Simulation of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *RSC Advances*, **8**, 20928-20940. <https://doi.org/10.1039/c8ra02633e>
 - [22] Asadpour, S., Ai, J., Davoudi, P., Ghorbani, M., Jalali Monfared, M. and Ghanbari, H. (2018) *In vitro* Physical and Biological Characterization of Biodegradable Elastic Polyurethane Containing Ferulic Acid for Small-Caliber Vascular Grafts. *Biomedical Materials*, **13**, Article 035007. <https://doi.org/10.1088/1748-605x/aaa8b6>

-
- [23] Sun, L., Wang, X., He, Y., Chen, B., Shan, B., Yang, J., *et al.* (2023) Polyurethane Scaffold-Based 3D Lung Cancer Model Recapitulates *in Vivo* Tumor Biological Behavior for Nanoparticulate Drug Screening. *Regenerative Biomaterials*, **10**, rbad091. <https://doi.org/10.1093/rb/rbad091>
- [24] Tomeh, M.A., Hadianamrei, R. and Zhao, X. (2019) A Review of Curcumin and Its Derivatives as Anticancer Agents. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article 1033. <https://doi.org/10.3390/ijms20051033>
- [25] Mirzaei, H., Bagheri, H., Ghasemi, F., Khoi, J.M., Pourhanifeh, M.H., Heyden, Y.V., *et al.* (2021) Anti-Cancer Activity of Curcumin on Multiple Myeloma. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, **21**, 575-586. <https://doi.org/10.2174/1871520620666200918113625>
- [26] Devassy, J.G., Nwachukwu, I.D. and Jones, P.J.H. (2015) Curcumin and Cancer: Barriers to Obtaining a Health Claim. *Nutrition Reviews*, **73**, 155-165. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuu064>
- [27] Mehta, H.J., Patel, V. and Sadikot, R.T. (2014) Curcumin and Lung Cancer—A Review. *Targeted Oncology*, **9**, 295-310. <https://doi.org/10.1007/s11523-014-0321-1>
- [28] Ji, J., Huang, X. and Zhu, H. (2012) Curcumin and Its Formulations: Potential Anti-Cancer Agents. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, **12**, 210-218. <https://doi.org/10.2174/187152012800228733>
- [29] Rutz, J., Janicova, A., Woidacki, K., Chun, F.K.-H., Blaheta, R.A. and Relja, B. (2020) Curcumin—A Viable Agent for Better Bladder Cancer Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article 3761. <https://doi.org/10.3390/ijms21113761>