

文章编号:1000-582X(2010)11-119-05

离体培养成骨细胞的有限元分析

颜功兴,刘占芳,邴光丰

(重庆大学 工程力学系,重庆 400044)

摘要:将成骨细胞看作是一种均匀、各向同性、不可压缩的粘弹性体,利用标准的线性粘弹性固体模型推导了成骨细胞的应力应变关系的矩阵形式,再利用 Lagrange 方程推导得出了系统的动力学有限元平衡方程。通过算例,计算得到多孔介质基板上骨细胞的位移、速度和应力强度历程。通过自编程序对单向拉伸离体培养成骨细胞装置进行了数值分析和模拟,计算了细胞体的变形、速度以及应力等,为进一步进行骨组织工程研究提供了理论基础。

关键词:成骨细胞;离体培养;有限元

中图分类号:Q66

文献标志码:A

The finite element analysis on electromechanical behaviors in bone tissues

YAN Gong-xing, LIU Zhan-fang, LI Guang-feng

(Department of Engineering Mechanics, Chongqing University, Chongqing 400044, P. R. China)

Abstract: Osteoblast is looked as a homogeneous isotropic and viscoelastic body which can't be compressed. Using the standard linear model of viscoelasticity, the matrix form of the relationship between stress and strain can be achieved, so the finite element balance equation can be got through Lagrange equation. An example for bone tissues on porous media board under loading is calculated, the history of displacement, velocity and stress are obtained. Then the osteoblast cultured invitro can be numerically analyzed by computer program, and the deformation, the velocity and the stress of osteoblast can be calculated.

Key words: osteoblast; invitro culture; finite element method

骨的生成是由成骨细胞(osteoblast)向周围分泌骨基质和纤维,然后将自身包埋于其中,形成类骨质,在钙盐沉积后变成骨组织而完成的,因而成骨细胞在骨组织生长、重建和形态形成过程中起着十分重要的作用,对它的研究受到各国学者的广泛关注^[1-3]。成骨细胞的离体培养及成骨细胞的力学特性的研究,对更清楚地认识骨的力学特性及进一步阐明骨生理、骨病理现象都有着非常深远的意义,其临床的应用前景十分广阔^[4-5]。笔者在离体培养的

情况下研究了成骨细胞的力学特性,从而在细胞水平上了解了骨组织的重建机理。

在这方面,目前已有许多学者做了工作。其中,Uchida^[6], Buckley 等^[7]通过基底材料的拉伸或弯曲变形对细胞加载,发现基底应变可以加快细胞的有丝分裂速率和细胞外基质的合成率,使胶原蛋白和非胶原蛋白的合成增加。Brington^[8]对取自鼠颅盖骨的骨细胞进行两向交变加载,研究骨细胞的增殖行为,在基底应变为 $1\ 700\ \mu\epsilon$ 时,细胞增殖显著增

收稿日期:2010-06-16

基金项目:国家自然科学基金资助项目(10572160)

作者简介:颜功兴(1973-),男,重庆大学高级工程师,博士,主要从事生物力学的研究,(E-mail)yaaangx@126.com。

加。Athansiou 等^[9]对成骨细胞样人骨瘤 MG-63 细胞做静水压从 0~7 MPa 的压缩实验,利用光学切割与体积重建技术来测量体积,发现成骨细胞是不可压缩的。国内,徐晋斌等^[10-12]在体外成功分离及培养了大鼠颅盖骨成骨细胞,并利用微管吸吮技术对乳鼠颅盖骨成骨细胞进行了吸吮实验,研究了其弹性力学以及粘弹性特性,并测量了杨氏模量。毛勇等^[13]通过对第 3 代大鼠成骨细胞施加剪切力和静压力,用相差显微镜和考马斯亮蓝染色方法观察加力后不同时间细胞及其细胞骨架形态的变化特征,发现细胞对剪应力更为敏感。张西正等^[14-15]等通过单向循环拉伸作用研究了成骨细胞的动力学响应。此外,他们还利用微管吸吮技术研究了 Wistar 大鼠成骨细胞的粘弹性与相对增殖指数的关系。

1 成骨细胞不可压缩粘弹性模型

细胞力学的研究是近几年来生物力学领域中迅速发展起来的一个前沿课题,其目的在于从力学角度阐明生命的奥秘。将成骨细胞看作为一种均匀、各向同性的不可压缩线性粘弹性体^[16],并采用标准线性粘弹性固体模型(三参数模型)。

为方便分析,将应力和应变分解为球量和偏量之和。由于成骨细胞不可压缩^[17],因而体积应变 ϵ_{kk} ($k=1,2,3$)满足

$$\epsilon_{kk} = 0, \quad (1)$$

引入一大数 β ,从而使得静水压力 σ_{kk} 有

$$\sigma_{kk} = \beta \epsilon_{kk}, \quad (2)$$

对于应力偏量,则有

$$S_{ij}(\mathbf{x}, t) = G_1(t) e_{ij}(\mathbf{x}, 0) + \int_0^t G_1(t-\tau) \frac{\partial e_{ij}(\mathbf{x}, \tau)}{\partial \tau} d\tau, \quad (3)$$

式中: t 代表时间; \mathbf{x} 代表空间位置矢量; τ 代表积分参变量; S_{ij} 和 e_{ij} 分别表示应力偏量和应变偏量。

$$G_1(t) = 2K_1 \left[1 - \frac{K_1}{K_1 + K_2} (1 - e^{-t/\eta}) \right], \quad (4)$$

式中: K_1 和 K_2 代表体积模量; η 代表黏性系数, $\eta = \eta_2 / K_2$ 。式(2)和式(3)便构成了不可压缩线性粘弹性固体的应力应变关系。为简化应力应变关系,令

$$G_2(t) = \frac{2K_1^2}{(K_1 + K_2)\eta} \cdot e^{-t/\eta}, \quad (5)$$

可得:

$$\begin{aligned} \sigma_{ij}(\mathbf{x}, t) = & G_1(0) \epsilon_{ij}(\mathbf{x}, t) - \frac{1}{3} [G_1(0) - \\ & \beta] \epsilon_{kk}(\mathbf{x}, t) \delta_{ij} - \int_0^t [\epsilon_{ij}(\mathbf{x}, \tau) - \\ & \frac{1}{3} \epsilon_{kk}(\mathbf{x}, \tau) \delta_{ij}] G_2(t-\tau) d\tau, \end{aligned} \quad (6)$$

式中 δ_{ij} 表示克氏符号,上式也可表示为:

$$\{\sigma(\mathbf{x}, t)\} = [D_1] \{\epsilon(\mathbf{x}, t)\} - [D_2^*] \cdot \int_0^t G_2(t-\tau) \{\epsilon(\mathbf{x}, \tau)\} d\tau, \quad (7)$$

式中:

$$\begin{aligned} \{\sigma\} = & [\sigma_{11} \quad \sigma_{22} \quad \sigma_{33} \quad \sigma_{12}]^T, \\ \{\epsilon\} = & [\epsilon_{11} \quad \epsilon_{22} \quad \epsilon_{33} \quad \gamma_{12}]^T, \end{aligned} \quad (8)$$

$$[D_1] = \begin{bmatrix} d_1 & d_2 & d_2 & 0 & 0 & 0 \\ & d_1 & d_2 & 0 & 0 & 0 \\ & & d_1 & 0 & 0 & 0 \\ \text{对} & & & d_3 & 0 & 0 \\ & & & & d_3 & 0 \\ & & & & & d_3 \end{bmatrix},$$

$$[D_2^*] = \begin{bmatrix} \frac{2}{3} & -\frac{1}{3} & -\frac{1}{3} & 0 & 0 & 0 \\ & \frac{2}{3} & -\frac{1}{3} & 0 & 0 & 0 \\ & & \frac{2}{3} & 0 & 0 & 0 \\ \text{对} & & & \frac{1}{2} & 0 & 0 \\ & & & & \frac{1}{2} & 0 \\ & & & & & \frac{1}{2} \end{bmatrix}, \quad (9)$$

$$\text{而 } d_1 = \frac{[2G_1(0) + \beta]}{3}, \quad d_2 = -\frac{[G_1(0) - \beta]}{3},$$

$$d_3 = \frac{G_1(0)}{2}.$$

对于式(7)右端的积分项,采用梯形积分法来求解。先将时间区间 $[0, t]$ 划分成 n 个等分 ($n > 1$), 令 $t_i = i \cdot \Delta t$, 则 $t_n = t$ 。将积分展开可得:

$$\begin{aligned} \int_0^t G_2(t-\tau) \{\epsilon(\mathbf{x}, \tau)\} d\tau = & \sum_{i=0}^{n-2} \frac{1}{2} [G_2(t-t_i) \{\epsilon(\mathbf{x}, t_i)\} + \\ & G_2(t-t_{i+1}) \{\epsilon(\mathbf{x}, t_{i+1})\}] \Delta t + \frac{1}{2} G_2(\Delta t) \{\epsilon(\mathbf{x}, t_{n-1})\} \cdot \\ & \Delta t + \frac{1}{2} G_2(0) \{\epsilon(\mathbf{x}, t)\} \cdot \Delta t. \end{aligned} \quad (10)$$

则由式(7)和式(10)可得:

$$\{\sigma(\mathbf{x}, t)\} = [D] \{\epsilon(\mathbf{x}, t)\} - \{C\}, \quad (11)$$

式中:

$$\begin{aligned} \{C\} = & -[D_2^*] \left\{ \frac{1}{2} G_2(\Delta t) \{\epsilon(\mathbf{x}, t_{n-1})\} \cdot \Delta t + \right. \\ & \sum_{i=0}^{n-2} \frac{1}{2} [G_2(t-t_i) \{\epsilon(\mathbf{x}, t_i)\} + \\ & \left. G_2(t-t_{i+1}) \{\epsilon(\mathbf{x}, t_{i+1})\}] \Delta t \right\}, \end{aligned} \quad (12)$$

$$[D] = \begin{bmatrix} d_4 & d_5 & d_5 & 0 & 0 & 0 \\ & d_4 & d_5 & 0 & 0 & 0 \\ & & d_4 & 0 & 0 & 0 \\ & & & \text{对} & d_6 & 0 \\ & & & & & d_6 \\ & & & & & & d_6 \end{bmatrix}, \quad (13)$$

$$\text{而 } d_4 = \frac{[2G_1(0) - G_2(0)\Delta t + \beta]}{3},$$

$$d_5 = \frac{[-2G_1(0) + G_2(0)\Delta t + 2\beta]}{6},$$

$$d_6 = \frac{[2G_1(0) - G_2(0)\Delta t]}{4}. \text{ 式(11)即为不可压缩粘弹性成骨细胞本构关系的矩阵形式。}$$

2 有限元分析

为进行有限元分析,现引入问题的初边值条件。其中边界条件为:

$$\begin{aligned} u_i &= f_i & \text{on } \Gamma_u, \\ \sigma_{ij} n_j &= T_i & \text{on } \Gamma_\sigma. \end{aligned} \quad (14)$$

式中: u_i 表示边界节点位移; f_i 表示位移边界; n_j 表示方向矢量; T_i 表示表面力。

初始条件为:

$$u_i(0) = u_i^0; u_{i,t}(0) = u_{i,t}^0. \quad (15)$$

为建立系统的动力学方程,现直接利用 Lagrange 方程,它表示为

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{\partial L}{\partial \dot{\mathbf{u}}} \right) - \frac{\partial L}{\partial \mathbf{u}} + \frac{\partial R}{\partial \dot{\mathbf{u}}} = 0, \quad (16)$$

式中: \mathbf{u} 代表位移矢量; L 为 Lagrange 函数:

$$L = T - \Pi_p, \quad (17)$$

T, Π_p, R, \mathbf{u} 和 $\dot{\mathbf{u}}$ 分别为系统的动能、势能、耗散函数、节点位移向量以及节点速度向量。通过相应的动能、势能和散能表达式,代入式(16)推导可得:

$$\mathbf{M}\ddot{\mathbf{u}} + \mathbf{C}\dot{\mathbf{u}} + \mathbf{K}\mathbf{u} = \mathbf{Q} + \mathbf{R} \quad (18)$$

式中: \mathbf{M} 为质量矩阵; \mathbf{C} 为阻尼矩阵; \mathbf{K} 为刚度矩阵; \mathbf{Q} 为节点力矢量; \mathbf{R} 为耗散能对应的力; $\ddot{\mathbf{u}}$ 为加速度矢量。

$$\begin{aligned} \mathbf{M} &= \sum_e \mathbf{M}^e, \mathbf{K} = \sum_e \mathbf{K}^e, \mathbf{C} = \sum_e \mathbf{C}^e, \mathbf{R} = \sum_e \mathbf{R}^e, \\ \mathbf{Q} &= \sum_e \mathbf{Q}^e. \end{aligned} \quad (19)$$

而

$$\mathbf{M}^e = \int_{V_e} \rho \mathbf{N}^T \mathbf{N} dv, \mathbf{K}^e = \int_{V_e} \mathbf{B}^T \mathbf{D} \mathbf{B} dv,$$

$$\mathbf{C}^e = \int_{V_e} c \mathbf{N}^T \mathbf{N} dv, \mathbf{R}^e = \frac{1}{2} \int_{V_e} \mathbf{B}^T \mathbf{C} dv,$$

$$\mathbf{Q}^e = \int_{V_e} \mathbf{N}^T \mathbf{f} dv + \int_{S_e} \mathbf{N}^T \mathbf{T} dS. \quad (20)$$

式中: \mathbf{N} 为插值函数; \mathbf{D} 为材料常数矩阵; \mathbf{B} 为应变矩阵; V 为体积, S 为面积。

式(18)即为系统的有限元平衡方程。

3 两相多孔介质

对于离体培养成骨细胞中所使用的基体材料,笔者采用两相多孔介质模型。由文献^[11]所述,可以得到其控制场方程。

质量平衡方程:

$$\nabla \cdot (\varphi^S \dot{\mathbf{u}}^S + \varphi^F \dot{\mathbf{u}}^F) = 0, \quad (21)$$

式中: φ 为体积分数; F 表示流体; S 为固体。

动量平衡方程:

$$\rho^S \ddot{\mathbf{u}}^S = \nabla \cdot \mathbf{T}_E^S - \varphi^S \nabla p + \kappa(\dot{\mathbf{u}}^F - \dot{\mathbf{u}}^S), \quad (22)$$

$$\rho^F \dot{\mathbf{u}}^F = -\varphi^F \nabla p - \kappa(\dot{\mathbf{u}}^F - \dot{\mathbf{u}}^S). \quad (23)$$

有了以上控制方程,根据相应的初边值条件,通过引入罚参数来消去压力 p ,再由 Galerkin 加权残值法推导可以得到问题的有限元平衡方程:

$$\mathbf{M}\ddot{\mathbf{u}} + \mathbf{C}\dot{\mathbf{u}} + \mathbf{K}\mathbf{u} = \mathbf{f}, \quad (24)$$

式中: ρ 为密度, \mathbf{f} 为外力矢量。

4 算例

为模拟体外培养成骨细胞的受力情况,编制了二维有限元分析程序。为使分析更接近实际情况,基体材料采用两相多孔介质单元,而细胞本身则用不可压粘弹性单元。基于连续介质的假设,每个单元是若干个细胞的集合体,本文不单独考察单个成骨细胞的行为,而是基于多孔介质假设考虑有若干足够大的成骨细胞和孔隙的整体行为,这也是宏观上骨组织成长所关心的问题。

如图 1 所示,细胞种植在多孔介质基板上,基板受四点弯曲作用,其有限元网格和尺寸以及载荷如图 2 所示。模型总共划分为 88 个单元、112 个节点,其中,16 号节点和 93 号节点均固定,5 号节点和 112 号节点受载荷作用。对于基体多孔介质材料,其材料参数有: $E^S = 2.0 \times 10^9 \text{ N/m}^2$, $\nu^S = 0.3$, $\varphi^S = 0.6$, $\varphi^F = 0.4$, $\rho^S = 2.0 \times 10^5 \text{ kg/m}^3$, $\rho^F = 1000 \text{ kg/m}^3$, $k_1 = 1.57 \times 10^{-4} \text{ m/s}$, $K_{12} = -1.98 \times 10^{-4} \text{ m}^2 / (\text{V} \cdot \text{s})$ 。对于成骨细胞,根据张西正等^[15]所

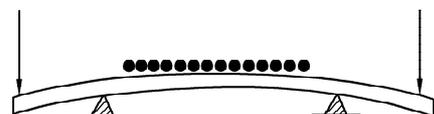


图 1 离体培养成骨细胞装置

测,取 $K_1=151.7 \text{ Pa}$, $K_2=54.3 \text{ Pa}$, $\mu_2=14.2 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ 。

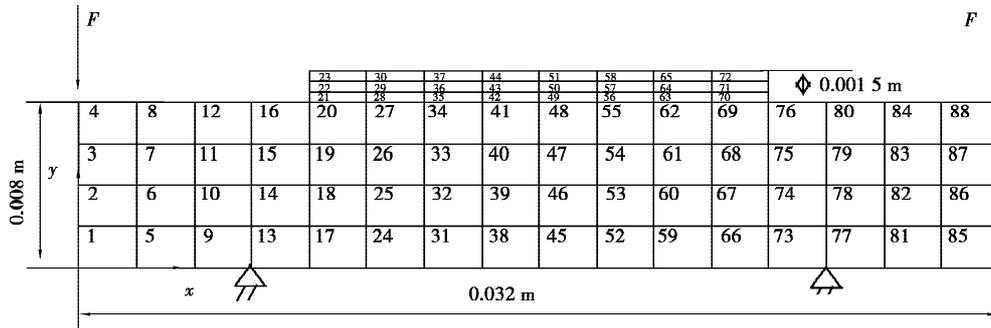


图 2 四点弯曲梁有限元网格图

当载荷为图 3 所示准静态载荷作用下时,有限元计算结果如图 4-7 所示。从图 4 中的结果可知,在外力增加然后保持不变的过程中,细胞所在节点的位移随时间逐渐增加,最后趋于稳定值,反映了细胞的粘弹性性质。图 5 给出了细胞所在节点(58)的速度随时间的变化规律。由图可知,随载荷的增加,节点速度也随之而增加,但当载荷保持稳定时,节点的速度随之而下降,并最后趋于零。图 6 给出了细胞的等效应力随时间的变化规律。可见,当载荷增加时,细胞所受的应力同步增加,当载荷保持稳定后,细胞的应力随即下降,并随时间的增加应力减少的幅度越来越小。图 7 为 $t=20 \text{ s}$ 时刻的整体变形图。

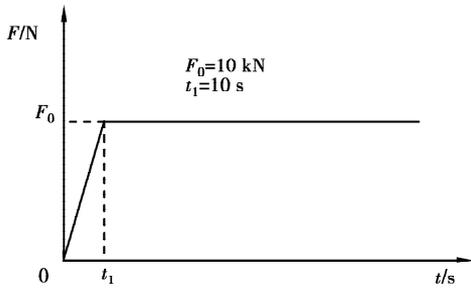


图 3 拟静态载荷

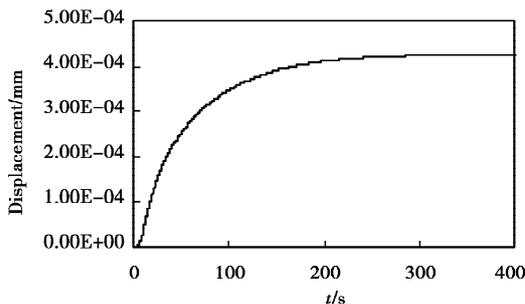


图 4 58 号节点的位移响应

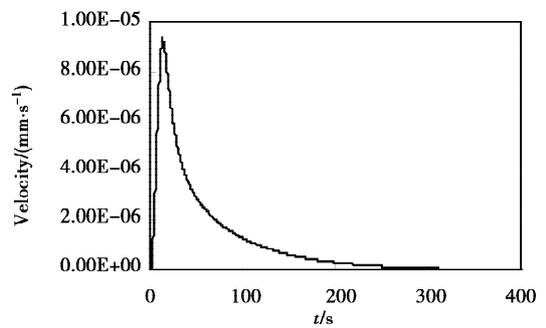


图 5 58 号节点的速度响应

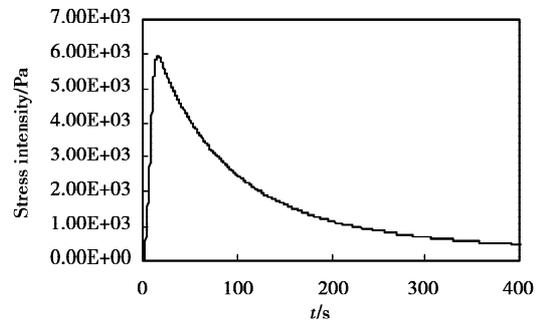


图 6 58 号节点的应力强度响应

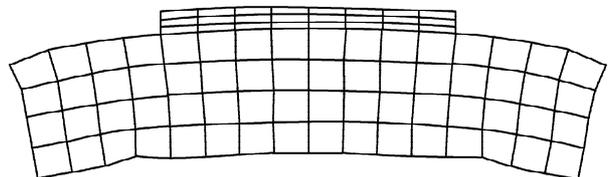


图 7 $t=20 \text{ s}$ 时的变形图

5 结语

由于在体内研究骨组织生长和重建现象时,要受很多复杂因素(体内环境)的影响,因而无法直接考虑应力对骨组织生长的关系,若能够在体外没有血管、肌肉等的情况下培养骨组织,那么许多复杂的生理因素在组织培养过程中可被去除,因而理解骨

组织生长与应力的关系将更为直接和明确。笔者通过对成骨细胞建立不可压缩粘弹性模型,再用有限元数值分析方法得到了成骨细胞在离体培养下的受力情况。

参考文献:

- [1] ONTIVEROS C, IRWIN R, WISEMAN R W, et al. Hypoxia suppresses Runx2 independent of modeled microgravity[J]. *Cell Physiol*, 2004, 200(2): 169-176.
- [2] Park J H, Park B H, Kim H K, et al. Hypoxia decreases Runx2/Cbfa1 expression in human osteoblast-like cell[J]. *Molecular and Cellular Endocrine*, 2002, 192(1/2): 197-203.
- [3] 关键,程宗生,王键平,等.成骨细胞中Runx2对机械离心力刺激的响应[J].*华西口腔医学杂志*, 2010, 28(1): 38-40.
GUAN JIAN, CHENG ZONG-SHENG, WANG JIAN-PING, et al. Bone morphogenetic protein signal transduction pathway regulates Runx2 expression in MC3T3-E1 osteoblasts in vitro induced by centrifugation[J]. *West China Journal of Stomatology*, 2010, 28(1): 38-40.
- [4] UTTING J C, ROBINS S P, BRANDO-BURCH A, et al. Hypoxia inhibits growth, differentiation and bone forming capacity of rat osteoblast [J]. *Experimental Cell Research*, 2006, 312 (10): 1693-1702.
- [5] SALIM A, NACAMULI R P, MORGAN E F, et al. Transient changes in oxygen tension inhibit osteogenic differentiation and Runx expression in osteoblasts[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 40007-40016.
- [6] UCHIDA A. The effect of mechanical stress on cultured growth cartilage cells [J]. *Connect Tissue Res*, 1988, 17: 305-311.
- [7] BUCKLY M J, BANES A J, JORDON R D, et al. The effects of mechanical strain on osteoblasts in vitro [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 1990, 48(3):276-286.
- [8] BRINGTON C T, FISHER J R, LEVINE S E, et al. The biochemical pathway mediating the proliferative response of bone cells to a mechanical stimulus [J]. *J Bone Joint Surg*, 1996, 78(A): 1337-1347.
- [9] ATHANASIOU K A, NIEDERAUER G G, SCHENCK R C. Biomechanical topography of human ankle cartilage[J]. *Annals of Biomedical Engineering*, 1995, 23(5): 697-704.
- [10] 徐晋斌,吴文周,张火圣,等.鼠成骨细胞力学特性的理论与实验[J].*太原理工大学学报*, 1998, 29(1):1-3.
XU JIN-BIN, WU WEN-ZHOU, ZHANG HUO-SHENG, et al. Theoretical and experimental study on mechanical properties of rat osteoblasts[J]. *Journal of Taiyuan University of Technology*, 1998, 29(1): 1-3.
- [11] 徐晋斌,樊学军,张火圣,等.微管吸吮和半无限体模型在鼠成骨细胞粘弹性研究中的应用[J].*生物物理学报*, 1998, 14(2):360-366.
XU JIN-BIN, FAN XUE-JUN, ZHANG HUO-SHENG, et al. Application of micropipette aspiration and half-space model in the study on viscoelasticity of rat osteoblast[J]. *Acta Biophysica*, 1998, 14(2): 360-366.
- [12] 张火圣,徐晋斌,樊学军,等.大鼠颅盖骨成骨细胞的体外培养及其弹性力学特性研究. *中国生物医学工程学报*, 1999, 18(4):433-440.
ZHANG HUO-SHENG, XU JIN-BIN, FAN XUE-JUN, et al. In vitro culture and study on mechanical properties of rat osteoblast [J]. *Chinese Journal of Biomedical Engineering*, 1999, 18(4): 433-440.
- [13] 毛勇,段小红,王忠义,等.不同应力对成骨细胞和细胞骨架影响的实验研究[J].*牙体牙髓牙周病学杂志*, 2001, 11(2): 98-100.
MAO YONG, DUAN XIAO-HONG, WANG ZHONG-YI, et al. Study of the effects of two different kinds of stress on osteoblast and its cytoskeleton in vitro [J]. *Chinese Journal of Conservative Dentistry*, 2001, 11(2): 98-100.
- [14] 张西正,康少华,匡震邦,等.单向循环拉伸应变作用下成骨细胞动力学响应的实验研究[J].*中华创伤杂志*, 2001, 17(4): 219-221.
ZHANG XI-ZHENG, KANG SHAO-HUA, KUANG ZHEN-BANG, et al. Experimental study of osteoblast dynamic responds of Wistar rat under the action of uniaxial tensile substrate strain[J]. *Chinese Journal of Traumatology*, 2001, 17(4): 219-221.
- [15] 张西正,匡震邦,蔡绍哲,等. Wistar大鼠成骨细胞粘弹性与相对增殖指数关系的实验研究[J].*中国生物医学工程学报*, 2001, 20(4): 305-309.
ZHANG XI-ZHENG, KUANG ZHEN-BANG, CAI SHAO-XI, et al. The experimental study on relation between osteoblast viscoelasticy of Wistar rats and relative proliferation index [J]. *Chinese Journal of Biomedical Engineering*, 2001, 20(4): 205-309.
- [16] 李德源,刘占芳,励凌峰,等.横观各向同性松质骨撞击动力响应数值分析[J].*工程力学*, 2001, 17(5): 133-139.
LI DE-YUAN, LIU ZHAN-FANG, LI LING-FENG, et al. Numerical analysis of impact response of transversely isotropic cancellous bone[J]. *Engineering Mechanics*, 2001, 17(5): 133-139.
- [17] 曹阳,郑翼,陈扬熙,等.机械应力下成骨细胞外信号调节激酶 ERK1/2 的早期变化[J].*第四军医大学学报*, 2007, 28(18): 1663-1666.
CAO YANG, ZHENG YI, CEHN YANG-XI, et al. Effects of mechanical strain on expression of ERK1/2 in osteoblastic cells in vitro [J]. *Journal of the Fourth Military Medical University*, 2007, 28(18): 1663-1666.