

文章编号:1004-7220(2014)05-0424-08

振荡流动对组织工程用灌注式生物反应器中剪切力分布影响

徐锐^{1,2a}, 陈国宝², 张昌¹, 杨力², 吕永钢²

(1. 武汉纺织大学 环境工程学院, 武汉 430073;

2. 重庆大学 生物工程学院 a. 国家“111”基地, b. 生物流变科学与技术教育部重点实验室, 重庆 400044)

摘要: **目的** 考察振荡流动以及三维支架孔径和孔隙率对生物反应器内流速和剪切力分布的影响,并根据理论计算结果为脱细胞骨三维支架和灌注式生物反应器制备提出优化方法。**方法** 针对实验室前期制备的骨组织工程用脱细胞骨三维支架和灌注式生物反应器,将脱细胞骨三维支架简化为各向同性的多孔介质,对生物反应器内的流速和剪切力分布进行理论建模。**结果** 振荡流作用时,多孔支架材料内速度和达西剪切力呈现一致的变化规律,不同半径处流速和达西剪切力差异减小,有利于在骨组织工程中对种子细胞进行均匀三维培养。提高入口灌注流速可提高平均达西剪切力;增加多孔支架孔径或孔隙率对支架内流速峰值影响不大,但会显著降低平均达西剪切力;提高入口振荡流动振荡频率可降低支架内流速最大峰值,显著减小不同半径处流速的差异。**结论** 适宜的振荡流易产生利于骨组织工程干细胞所需剪切力,研究结果有望为优化骨组织工程中种子细胞的三维培养方法提供理论指导。

关键词: 生物反应器; 计算流体力学; 组织工程学; 数值模拟; 剪切力; 振荡流动

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

Effects of oscillatory flow on shear stress distributions in perfusion bioreactor for bone tissue engineering

XU Rui^{1,2a}, CHEN Guo-bao², ZHANG Chang¹, YANG Li², LÜ Yong-gang² (1. School of Environmental Engineering, Wuhan Textile University, Wuhan 430073, China; 2. a. '111' Project Laboratory of Biomechanics and Tissue Repair, b. Key Laboratory of Bio-rheological Science and Technology, Ministry of Education, College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract: Objective To study the effects of oscillatory flow, as well as pore size and porosity of the 3D scaffold on distributions of flow rate and shear stress in perfusion bioreactor, and to propose optimization methods for preparing the 3D decellularized bone scaffold and perfusion bioreactor based on theoretical results. **Methods** Based on the previously established 3D decellularized scaffold and perfusion bioreactor for bone tissue engineering in the laboratory, the decellularized scaffold was simplified as an isotropic porous media. The velocity and shear stress distributions in the bioreactor were further simulated theoretically. **Results** Under the oscillatory flow, the Darcy shear stress and velocity in the 3D porous scaffold presented a consistently regular pattern. Compared with the unidirectional flow, the difference of velocity and Darcy shear stress decreased at different radius, which could contribute to the homogeneous 3D culture of seed cells in bone tissue engineering. Increasing the inlet perfusion velocity could improve the average Darcy shear stress. Increasing the pore diameter or porosity of the scaffold

收稿日期:2014-06-26; 修回日期:2014-07-21

基金项目:中央高校基本科研业务费(CDJZR 12238801)。

通信作者:吕永钢,教授, Tel: (023) 65111632, E-mail: yglv@cqu.edu.cn;

张昌,教授, Tel: (027) 59367532, E-mail: czhang@wtu.edu.cn。

had no obvious effects on the peak value of velocity, but sharply reduced the average Darcy shear stress. Increasing inlet oscillation frequency could decrease the peak value of velocity and obviously decrease the difference of velocity at different radius. **Conclusions** Appropriate oscillatory flow was beneficial for generating required shear stress for stem cells in bone tissue engineering. The research findings in this study are expected to provide theoretical guidance to optimize the 3D culture method of seed cells for bone tissue engineering.

Key words: Bioreactors; Computational fluid dynamics (CFD); Tissue engineering; Numerical simulation; Shear stress; Oscillatory flow

骨组织工程和再生医学等概念的提出为大块骨缺损修复提供了一种很有前景的修复方法,流体剪切力作用下的细胞三维培养是骨组织工程的关键技术。体内、体外实验均已证实,流体剪切力是骨骼细胞能感受到的主要应力^[1],同时可增强对骨细胞的氧和营养物质输运以及代谢物质的交换。考虑到人体持续反复的运动形式,振荡流体剪切力应是更接近骨细胞体内生理环境的力学刺激方式^[2-4]。振荡流可以诱导骨细胞的增殖^[5]、刺激成骨细胞 Ca^{2+} 的释放以及骨桥蛋白基因的表达^[6],并可通过细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)/丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)来调节骨细胞的细胞间隙连接通讯^[7]。对于成骨细胞,研究表明局部黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)在振荡流诱导的ERK激活过程中扮演了十分重要的角色,可以上调骨形成相关基因的表达^[8]。另外,与单向流体剪切力相比较,振荡流体剪切力可以促进种子细胞在整个三维支架中更加均一地分布和增殖^[9]。然而,目前有关振荡流的研究多集中在二维条件,与细胞在体内所处的三维环境具有很大差别。在三维环境中,整个细胞被完全包裹在基质当中,则其所处的力学微环境也是三维的,与传统的二维平板培养条件下的力学微环境有较大的差异^[10]。静态的三维培养不利于营养物质的供给和细胞代谢废物的排出,限制了细胞在体外的长期培养,而三维灌注式生物反应器的构建可以克服三维培养存在的这一缺陷。已有研究考察了种子细胞在三维条件下对不同剪切力刺激响应^[11-12],但少见考察振荡流作用下三维灌注式生物反应器内剪切力分布情况。本文在课题组前期获得三维脱细胞骨组织工程支架和用于实现振荡灌注装置的基础上,分析单向流动和振荡流对多孔支架材料内流动速度与剪切力分布的影响差异,研究结果有望为优化骨组织工程中种子细胞的

三维培养方法提供理论指导。

1 理论模型建立及求解

如图1所示,三维灌注式生物反应器可简化为直径10 mm、长15 mm的圆柱体,高5 mm、直径10 mm的多孔支架材料固定在生物反应器中间部位。支架孔隙率为75%~95%,微孔直径为200~500 μm ^[13];灌注时通过可编程精密注射泵将培养液泵入三维多孔支架,从生物反应器出口流出。为重点比较单向流动和振荡流对多孔支架材料里流动速度和剪切力的影响,本文暂不考虑在三维多孔支架材料上种子细胞增殖和材料降解。

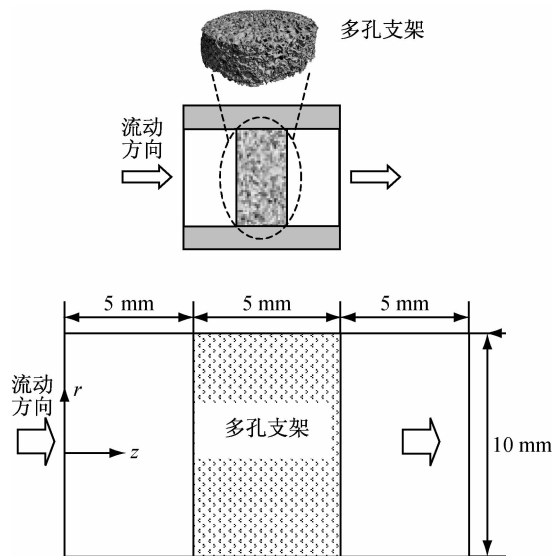


图1 三维生物反应器示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the 3D bioreactor

细胞培养液假设为黏性、不可压缩牛顿流体,入口段与出口段流动的基本控制方程采用连续性方程和 Navier-Stokes 方程:

$$\frac{\partial U_r}{\partial r} + \frac{\partial U_z}{\partial z} + \frac{U_r}{r} = 0 \quad (1)$$

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho U_z) + \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial z}(r\rho U_z^2) + \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r}(r\rho U_r U_z) = -\frac{\partial p}{\partial z} + \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial z}\left(2r\mu \frac{\partial U_z}{\partial z}\right) + \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r}\left[r\mu\left(\frac{\partial U_z}{\partial r} + \frac{\partial U_r}{\partial z}\right)\right] \quad (2a)$$

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho U_r) + \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r}(r\rho U_r^2) + \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial z}(r\rho U_r U_z) = -\frac{\partial p}{\partial r} + \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r}\left(2r\mu \frac{\partial U_r}{\partial r}\right) + \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial z}\left[r\mu\left(\frac{\partial U_z}{\partial r} + \frac{\partial U_r}{\partial z}\right)\right] + \rho \frac{U_z^2}{r} - 2\mu \frac{U_r}{r^2} \quad (2b)$$

式中: U_r 、 U_z 分别为流体在半径 r 、轴线 z 方向的速度, ρ 为细胞培养液密度, U 为细胞培养液流动速度, p 为细胞培养液内部压力, μ 为培养液动力黏度, t 为流动时间。

入口的边界条件为:

$$U_z = u_0, \quad U_r = 0, \quad t > 0 \quad (3)$$

出口边界条件为:

$$\nabla U = 0, \quad \nabla p = 0, \quad t > 0 \quad (4)$$

壁面边界条件:

$$U = 0 \quad (5)$$

初始条件为:

$$U = 0, \quad t = 0 \quad (6)$$

多孔支架材料假设为简单各向同性的多孔材料,流动符合达西定律,相对于入口段与出口段,处理简单均一多孔介质流动区域时在方程(2)右端加源项 S ,其中包含黏性损失项及惯性损失项:

$$S = -(\mu U/\alpha + C_2\rho|U|U/2) \quad (7)$$

式中: S 为矢量源项; α 为渗透系数; C_2 为惯性阻力系数。

单向流动时,采用文献[14]提供的最大流速 $800 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 可知,生物反应器流动始终处于层流,惯性阻力系数 C_2 可忽略不计,但紊流时不可忽略。 α 及 C_2 由 Ergun 方程及 Blake-Konzeny 方程获得^[15]:

$$\alpha = (d^2/150) \cdot (\varepsilon^3/(1 - \varepsilon)^2) \quad (8a)$$

$$C_2 = (3.5/d) \cdot ((1 - \varepsilon)/\varepsilon^3) \quad (8b)$$

式中: d 为支架孔径, ε 为支架孔隙率。

入、出口段与多孔支架交界面处边界条件为:

$$U_{\text{入,出口}} = U_{\text{支架面}}, p_{\text{入,出口}} = p_{\text{支架面}} \quad (9)$$

$$\nabla^2 U_{\text{入,出口}} = \nabla^2 U_{\text{支架面}} \quad (10)$$

振荡流动时处于湍流区域,选取标准 $k-\varepsilon$ 双方

程模型求解流场,多孔支架区域的阻力源项仍为 S 。三维灌注式生物反应器内达西剪切力为^[16]:

$$\tau_{\text{darcy}} = \mu U/\sqrt{\alpha} \quad (11)$$

上述方程采用 Fluent 软件进行求解。先利用 Gambit 软件绘制三维生物反应器模型,通过结构化网络进行体网格划分,经网格可靠性检验后,将网格读入 Fluent 软件求解。将本文单向流的模拟结果与前人理论计算结果进行对比,以验证本文计算方法。

2 计算结果

在以下算例中,参照参考文献[7,17-18]和实验室前期测试结果,细胞培养液和多孔支架材料物性参数典型值取为:

$$\mu = 0.0012 \text{ kg} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-1}, \rho = 1000 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3[17]}, \varepsilon = 75\% \sim 95\%, d = 200 \sim 500 \mu\text{m}。$$

考虑骨细胞生长的实际生理微环境,采用单向与振荡流动进行模拟对比,振荡频率为 1 Hz,计算中令振荡流动在半周期内的平均流速与相应的单向流动流速在数值上一致^[7,18],孔隙率与孔隙半径在变化范围内按梯度取值(见表1)。振荡流作用下,为有利于灌注式生物反应器内养分输送和废物排出,在振动流动的基础上附一个小的正向流动。本计算中基础值取为 $30 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$,后续算例中会讨论此值大小对反应器内流速和剪切力分布的影响。

表1 计算采用的参数典型值

Tab.1 Typical values for parameters used in simulation

单向流动 $u_0/$ ($\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$)	振荡流 $u_0/$ ($\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$)	孔隙率 $\varepsilon/\%$	直径 $d/\mu\text{m}$
400	$30 + 200\pi\sin(2\pi t)$	75	200
600	$30 + 300\pi\sin(2\pi t)$	85	350
800	$30 + 400\pi\sin(2\pi t)$	95	500

2.1 计算模型验证

为与前人研究的计算结果进行对比,考虑灌注生物反应器的对称结构,定义其一侧截面区的平均剪切力为:

$$\bar{\tau}_{\text{darcy}} = \int_{z=5}^{10} \int_{r=0}^5 \tau_{\text{darcy}} dz dr / \int_{z=5}^{10} \int_{r=0}^5 dz dr \quad (12)$$

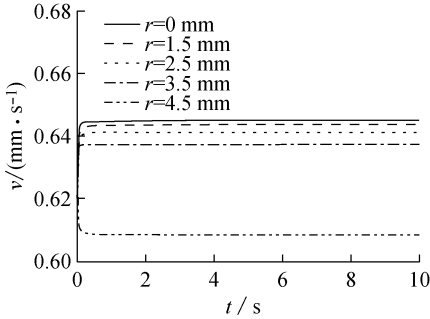
依据参考文献[19]的模拟条件($u_0 = 114.5 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 、 $\varepsilon = 80\%$ 、 $d = 180 \mu\text{m}$),利用本文程序可得平均达西

剪切力为 1.78 mPa,与参考文献[19]得到的平均剪切力 2.56 mPa 接近,间接证明本文计算程序可靠。

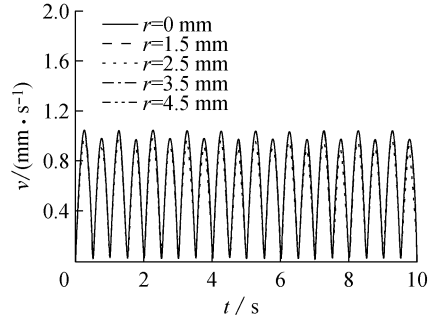
2.2 多孔支架材料中流速和剪切力分布

多孔支架微结构取特征值 $\varepsilon = 85\%$ 、 $d = 350 \mu\text{m}$ 时,单向流动和振荡流作用下多孔支架中部($z = 7.5 \text{ mm}$)不同半径处流速随时间变化见图 2。入口单向流动 $u_0 = 600 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 作用下,稳定时同一时刻支

架内 $z = 7.5 \text{ mm}$ 面上各处流速随着半径增加逐渐减小,对称中心区域($r = 0 \text{ mm}$)处速度最大,且各处流速在 5 s 后均达到稳定,表现为明显的层流(见图 2(a))。振荡流动 $u_0 = 30 + 300\pi\sin(2\pi t) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 作用下, $z = 7.5 \text{ mm}$ 面上各处流速随时间呈现周期性变化,在几秒后也达到“动态平衡”,且各半径处流速差别显著减小,没有明显差异(见图 2(b))。



(a) $u_0 = 600 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$



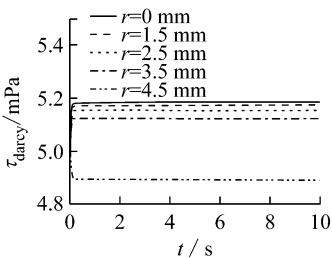
(b) $u_0 = 30 + 300\pi\sin(2\pi t) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$

图 2 单向流动和振荡流作用下 $z = 7.5 \text{ mm}$ 处流速分布 ($\varepsilon = 85\%$, $d = 350 \mu\text{m}$)

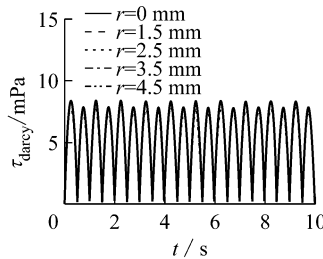
Fig. 2 Velocity distributions at $z = 7.5 \text{ mm}$ under different flows (a) Unidirectional flow ($u_0 = 600 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$), (b) Oscillatory flow ($u_0 = 30 + 300\pi\sin(2\pi t) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$)

图 3 进一步给出了单向流动和振荡流作用下多孔支架 $z = 7.5 \text{ mm}$ 面上不同半径处达西剪切力以及平均达西剪切力分布。单向流动和振荡流作用下多孔支架中部($z = 7.5 \text{ mm}$)不同半径处达西剪切力随时间变化规律与速度随时间变化规律相同。单向流作用下,多孔支架材料对称中心处达西剪切力最大,达到平衡时约为 5.18 mPa,离多孔支架中心越远,达西剪切力越小(见图 3(a))。振荡流作用下,多

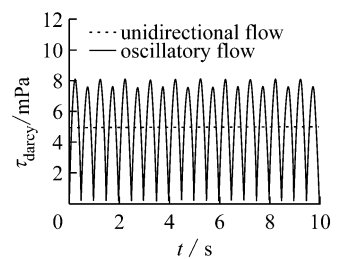
孔支架材料内不同区域的达西剪切力变化规律基本一致,达西剪切力最大峰值为 7.89 mPa,最低峰值为 0.22 mPa,随时间呈周期性变化(见图 3(b))。根据式(12)计算得单向流作用下多孔支架材料内平均达西剪切力约为 5 mPa;振荡流作用下多孔支架材料内平均达西剪切力最大峰值为 8.12 mPa,最低峰值为 0.23 mPa(见图 3(c))。



(a) $u_0 = 600 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$



(b) $u_0 = 30 + 300\pi\sin(2\pi t) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$



(c) 平均达西剪应力

图 3 单向流动和振荡流作用下 $z = 7.5 \text{ mm}$ 处达西剪切力以及平均达西剪切力分布 ($\varepsilon = 85\%$, $d = 350 \mu\text{m}$)

Fig. 3 Darcy shear stress and average Darcy shear stress distributions under different flows at $z = 7.5 \text{ mm}$ (a) Unidirectional flow ($u_0 = 600 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$), (b) Oscillatory flow ($u_0 = 30 + 300\pi\sin(2\pi t) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$), (c) Average Darcy shear stress under two flows

从图2、3可知,振荡流动灌注下多孔支架内不同半径处流速和达西剪切力之间差异明显减小,有利于均匀培养种子细胞。在本文计算中多孔支架材料内流速和剪切力均在几秒内达到稳定,为方便比较流速和剪切力变化趋势,后续计算中将重点给出

0~5 s内流速和剪切力变化。由图4可知,在10~90 $\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 变化范围内,振荡流中正向流速对多孔支架内流速和平均达西剪切力的影响很小,在后续计算中以30 $\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 为基准。

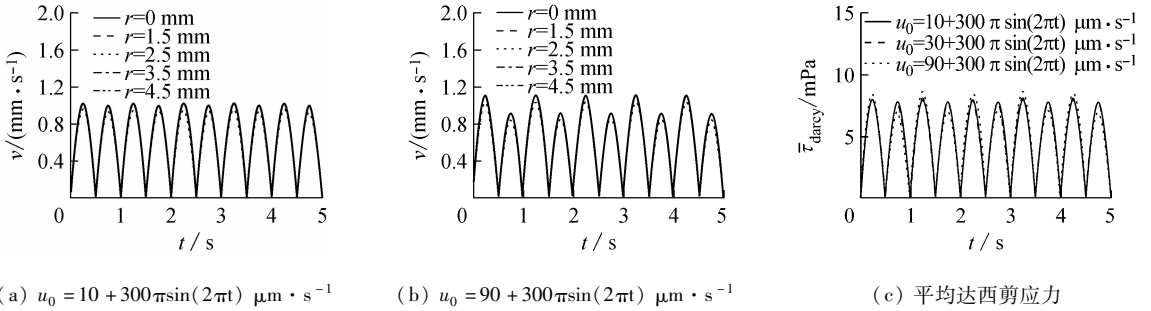


图4 不同振荡流动中正向流速对多孔支架内流速和平均达西剪切力的影响 ($d=350 \mu\text{m}$, $\varepsilon=85\%$)

Fig. 4 Influence of basic positive flow rate on the velocity and average Darcy shear stress under different oscillatory flows (a) $u_0 = 10 + 300\pi\sin(2\pi t) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$, (b) $u_0 = 90 + 300\pi\sin(2\pi t) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$, (c) Average Darcy shear stress under 3 different oscillatory flows

2.3 灌注速度对多孔支架材料内平均达西剪切力影响

单向流动作用下,入口速度为400、600和800 $\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$,平衡时多孔支架材料内平均达西剪切力分别为3.33、5.00和6.67 mPa(见图5(a))。

振荡流动作用下,入口速度为30 + 200 $\pi\sin(2\pi t)$ 、30 + 300 $\pi\sin(2\pi t)$ 和30 + 400 $\pi\sin(2\pi t)$ $\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,平衡时多孔支架材料内的平均达西剪切力最大峰值分别为5.50、8.12和10.98 mPa(见图5(b))。

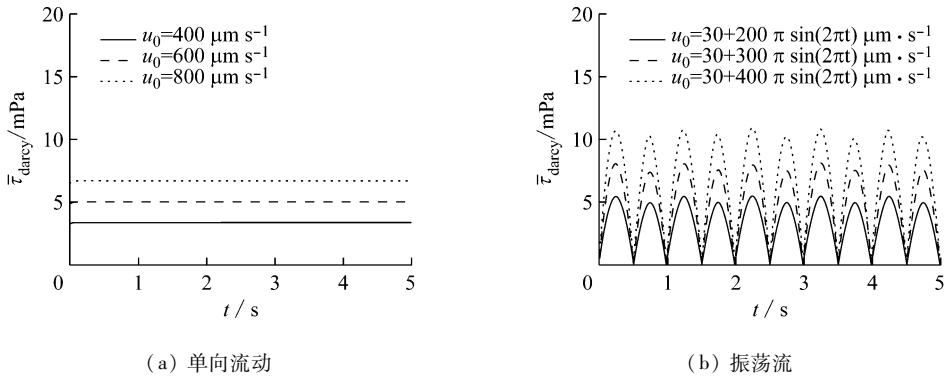


图5 不同流速作用下平均达西剪切力 ($d=350 \mu\text{m}$, $\varepsilon=85\%$)

Fig. 5 Average Darcy shear stress under different flow rates (a) Unidirectional flow, (b) Oscillatory flow

2.4 振荡流动振荡频率对流速和剪切力分布影响

图6所示为多孔支架材料孔径 d 为350 μm 、孔隙率 ε 为85%、振荡流动入口速度为30 + 300 $\pi\sin(2\pi t/f)$ $\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 时(f 为入口流动振荡频率),振荡流动频率对多孔支架内的流速和平均达西剪切力的影响。对比图2,流动振荡频率从0.5 Hz提高到1或2 Hz,多孔支架内流速最大峰值降低,不同半径

处流速差异减小,平均达西剪切力峰值稍有降低,但1和2 Hz之间差异不明显。从图6(a)可知,流动振荡频率为0.5 Hz时,半径 $r=0 \mu\text{m}$ 处流速峰值比半径 $r=4.5 \mu\text{m}$ 处流速峰值高1.07 $\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 。这一计算结果也说明在1和2 Hz的振荡频率下,细胞在多孔材料不同处所受到的流体速度和达西剪切力基本一致,利于三维支架内的细胞的均匀生长。

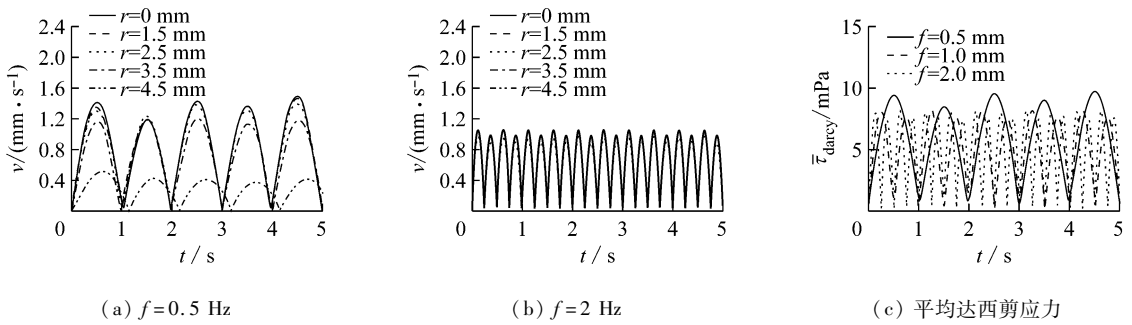


图6 振荡流作用下振荡频率对流速和平均达西剪切力的影响 ($u_0 = 30 + 300\pi\sin(2\pi t/f) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$, $d = 350 \mu\text{m}$, $\varepsilon = 85\%$)
 Fig. 6 Influence of oscillation frequency on the velocity and average Darcy shear stress under oscillatory flow (a) $f = 0.5 \text{ Hz}$, (b) $f = 2 \text{ Hz}$,
 (c) Average Darcy shear stress under 3 different oscillation frequency

2.5 多孔支架材料孔径对流速和剪切力分布影响

图7所示为多孔支架材料孔隙率 ε 为85%、振荡流入口速度为 $30 + 300\pi\sin(2\pi t) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,多孔支架孔径对流速和平均达西剪切力变化。对比图2(b),多孔支架孔径从200 μm 升高到500 μm ,多孔支架内流速的最大峰值以及不同半径处流速差异略有增大,但均不是非常明显(见图7(a)、(b)),但是

平均达西剪切力峰值发生较大的变化(见图7(c))。当孔径为200、350和500 μm ,平均达西剪切力峰值分别为13.96、8.12和5.77 mPa。计算结果表明,孔隙率一定的情况下,随着多孔支架孔径的增大,支架内流速变化不是非常明显,但是平均达西剪切力显著减小。根据式(8a)也可知,渗透系数 α 随着孔径的增大而增大,会引起达西剪切力减小。

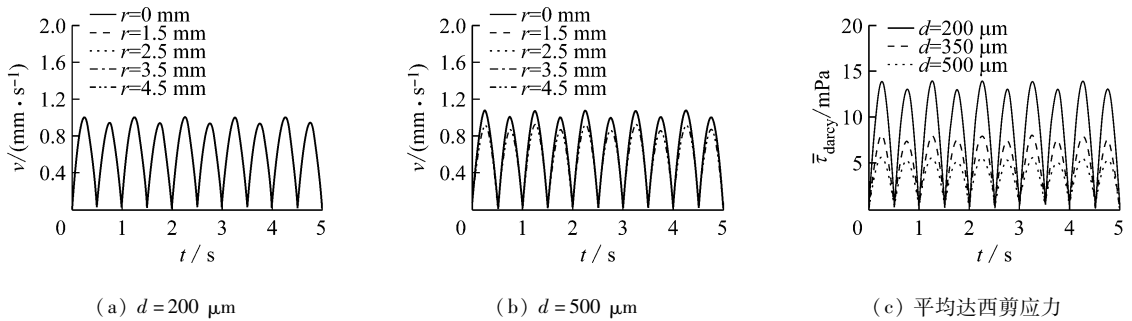


图7 振荡流作用下孔径对流速和平均达西剪切力的影响 ($u_0 = 30 + 300\pi\sin(2\pi t) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$, $\varepsilon = 85\%$)
 Fig. 7 Influence of pore diameter on the velocity and average Darcy shear stress under oscillatory flow (a) $d = 200 \mu\text{m}$, (b) $d = 500 \mu\text{m}$,
 (c) Average Darcy shear stress under 3 different pore diameters

2.6 多孔支架材料孔隙率对流速和剪切力分布影响

图8给出了多孔支架材料孔径 d 为350 μm 、振荡流入口速度为 $30 + 300\pi\sin(2\pi t) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,孔隙率为75%~95%时的流速和达西剪切力变化。对比图2(b),孔隙率在75%时流速峰值最低,随着孔隙率的增加,多孔支架内流速的最大峰值以及不同半径处流速差异逐步增大(见图8(a)、(b))。当

孔隙率为75%、85%和95%,平均达西剪切力峰值分别为17.40、8.12和2.40 mPa(见图8(c))。计算结果表明,孔径一定的情况下,随着多孔支架孔隙率的增大,平均达西剪切力显著减小。

3 讨论

本文针对实验室前期制备的骨组织工程用脱细胞骨三维支架和灌注式生物反应器,将脱细胞骨三

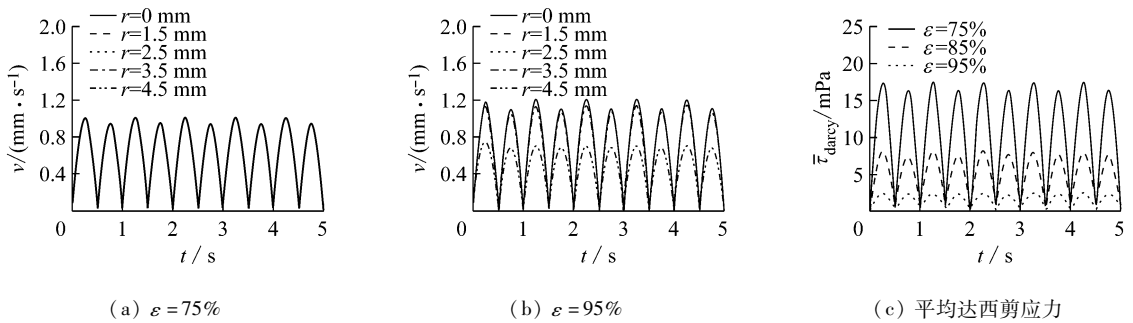


图8 振荡流作用下孔隙率对流速和平均达西剪切力的影响 ($u_0 = 30 + 300\pi\sin(2\pi t) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$, $d = 350 \mu\text{m}$)

Fig. 8 Influence of porosity on the velocity and average Darcy stress under oscillatory flow (a) $\varepsilon = 75\%$, (b) $\varepsilon = 95\%$, (c) Average Darcy shear stress at 3 different porosity

维支架简化为各向同性的多孔介质,对生物反应器内的流速和剪切力分布进行理论建模,并考察振荡流动以及三维支架孔径、孔隙率对生物反应器里流速和剪切力分布的影响。

在单向流动作用时,多孔支架材料内速度呈明显层流现象,离生物反应器对称中心距离越远支架内速度和达西剪切力逐渐降低,且不同半径处存在较大差异。振荡流作用时,多孔支架材料内速度和达西剪切力呈现一致的变化规律,不同半径处流速和达西剪切力差异减小,有利于在骨组织工程中对种子细胞进行均匀三维培养。

在本文模型尺寸下,振荡流入口速度选择 $30 + 300\pi\sin(2\pi t) \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 易产生利于骨组织工程干细胞所需剪切力(8.12 mPa)。Grayson 等^[14]研究表明,当灌流速度为 $80 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,支架内的平均剪切力为 0.6 mPa;随着灌流速度从 $400 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 不断提高到 $1.8 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$,支架内的平均剪切力从 2 mPa 逐渐增加到 20 mPa;而只有当灌流速度在 $400 \sim 800 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 范围时,最利于支架间充质干细胞的成骨分化。本文得到的剪切力范围在干细胞分化为骨组织所需的最佳剪切力范围内,振荡流入口速度在振荡流动基础上附加一个基础正向流动有利于物质运输。

振荡流动作用下,增加入口振荡流动振荡频率可降低支架内流速最大峰值,显著减小不同半径处流速的差异。研究者在探讨振荡流对骨细胞增殖、分化影响以及相关信号通路时多选用 1 Hz 的振荡频率^[5,20-22],这一振荡频率与人体内正常骨骼肌组织的收缩频率(1~2 Hz)^[23]是一致的。

振荡流动作用下,仅增加多孔支架孔径或孔隙率对支架内流速峰值影响不大,但会显著降低平均达西剪切力。Bartnikowski 等^[24]研究表明,保持 4 组三维多孔支架的孔隙率均为 $(60 \pm 5)\%$ 而孔径逐渐减小,则支架的渗透系数随着孔径的减小而减小;支架壁所受剪切力则随着孔径减小而增大,这一结果与本文的计算结果一致。而 McCoy 等^[25]研究表明,在保持支架的孔隙率(90%)和灌流流速($1 \text{ mL}/\text{min}$)不变的情况下,支架的孔径变化(85、120、325 μm)对平均剪切力、最大剪切力或剪切力分布没有显著性影响,出现这一结果的原因可能与这 3 组支架孔隙率过高有关。在支架孔径一定的情况下,随着多孔支架孔隙率的增大,平均达西剪切力显著减小(见图 8(c))。这一结果与 Yao 等^[26]研究三维支架的孔隙率变化对剪切力分布的影响趋势是一致的:在控制流速为 $0.425 \text{ mm}/\text{s}$ 的前提下,支架内的平均剪切力随着孔隙率的增加(60%~80%)而逐渐减小(约 17~5 mPa)。本文仅比较单向流动和振荡流对多孔支架材料里流动速度和剪切力的影响,在后续研究中会考虑在三维多孔支架材料上种子细胞增殖和材料降解对流动速度和剪切力的影响,从而更好为骨组织工程的三维培养提供参考和依据。

参考文献:

- [1] Liu L, Yu B, Chen J, et al. Different effects of intermittent and continuous fluid shear stresses on osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells [J]. Biomech Model Mechanobiol, 2012, 11(3-4): 391-401.

- [2] Huang C, Ogawa R. Mechanotransduction in bone repair and regeneration [J]. *FASEB J*, 2010, 24(10): 3625-3632.
- [3] Arnsdorf EJ, Tummala P, Kwon RY, *et al.* Mechanically induced osteogenic differentiation—The role of RhoA, ROCKII and cytoskeletal dynamics [J]. *J Cell Sci*, 2009, 122(Pt 4): 546-553.
- [4] Ponik SM, Triplett JW, Pavalko FM. Osteoblasts and osteocytes respond differently to oscillatory and unidirectional fluid flow profiles [J]. *J Cell Biochem*, 2007, 100(3): 794-807.
- [5] Lee DY, Li YS, Chang SF, *et al.* Oscillating flow-induced proliferation of osteoblast-like cells is mediated by alpha-vbeta3 and beta1 integrins through synergistic interactions of focal adhesion kinase and Shc with phosphatidylinositol 3-kinase and the Akt/mTOR/p70S6K pathway [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(3): 30-42.
- [6] You J, Reilly GC, Zhen X, *et al.* Osteopontin gene regulation by oscillating fluid flow via intracellular calcium mobilization and activation of mitogen-activated protein kinase in MC3T3-E1 osteoblasts [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(16): 13365-13371.
- [7] Alford AI, Jacobs CR, Donahue HJ. Oscillating fluid flow regulates gap junction communication in osteocytic MLO-Y4 cells by an ERK1/2 MAP kinase-dependent mechanism small star, filled [J]. *Bone*, 2003, 33(1): 64-70.
- [8] Young SR, Gerard-O'Riley R, Kim JB, *et al.* Focal adhesion kinase is important for fluid shear stress-induced mechanotransduction in osteoblasts [J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(3): 411-424.
- [9] Du D, Furukawa KS, Ushida T. Oscillatory perfusion culture of CaP-based tissue engineering bone with and without dexamethasone [J]. *Ann Biomed Eng*, 2009, 37(1): 146-155.
- [10] Chen G, Lv Y, Guo P, *et al.* Matrix mechanics and fluid shear stress control stem cells fate in three dimensional microenvironment [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2013, 8(4): 313-323.
- [11] Li D, Tang T, Lu J, *et al.* Effects of flow shear stress and mass transport on the construction of a large-scale tissue-engineered bone in a perfusion bioreactor [J]. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15(10): 2773-2783.
- [12] 孙晓江, 戴尅戎, 谢幼专, 等. 灌注型生物反应器中流速对人骨髓间充质干细胞增殖及成骨分化的影响 [J]. *医用生物力学*, 2012, 27(5): 582-587.
- Sun XJ, Dai KR, Xie YZ, *et al.* Effect of perfusion flow rate on proliferation and osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells [J]. *J Med Biomech*, 2012, 27(5): 582-587.
- [13] 吕永钢, 陈国宝, 邹杨. 一种具有不同刚度三维骨组织工程支架材料及其制备方法: 中国, 201410153286.7 [P]. 2014-04-16.
- [14] Grayson WL, Marolt D, Bhumiratana S, *et al.* Optimizing the medium perfusion rate in bone tissue engineering bioreactors [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2010, 108(5): 1159-1170.
- [15] Schiavi A, Guglielmo C, Pennella F, *et al.* Acoustic method for permeability measurement of tissue-engineering scaffold [J]. *Meas Sci Technol*, 2012, 23(5): 1-9.
- [16] Chung CA, Chen CW, Chen CP, *et al.* Enhancement of cell growth in tissue-engineering constructs under direct perfusion: Modeling and simulation [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2007, 97(6): 1603-1616.
- [17] 王贵学, 罗向东, 欧阳克清, 等. 剪切应力对毛细血管内皮细胞代谢的影响 [J]. *生物物理学报*, 1999, 15(1): 178-185.
- [18] Riddle RC, Hippe KR, Donahue HJ. Chemotransport contributes to the effect of oscillating fluid flow on human bone marrow stromal cell proliferation [J]. *J Orthop Res*, 2008, 26(7): 918-924.
- [19] Cioffia M, Küffer J, Ströbel S, *et al.* Computational evaluation of oxygen and shear stress distributions in 3D perfusion culture systems: Macro-scale and micro-structured models [J]. *J Biomech*, 2008, 41(14): 2918-2925.
- [20] Wang H, Young SR, Gerard-O'Riley R, *et al.* Blockade of TNFR1 signaling: A role of oscillatory fluid shear stress in osteoblasts [J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(4): 1044-1051.
- [21] Case N, Sen B, Thomas JA, *et al.* Steady and oscillatory fluid flows produce a similar osteogenic phenotype [J]. *Calcif Tissue Int*, 2011, 88(3): 189-197.
- [22] Wu CC, Li YS, Haga JH, *et al.* Roles of MAP kinases in the regulation of bone matrix gene expressions in human osteoblasts by oscillatory fluid flow [J]. *J Cell Biochem*, 2006, 98(3): 632-641.
- [23] Cowin SC. Mechanosensation and fluid transport in living bone [J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2002, 2(3): 256-260.
- [24] Bartnikowski M, Klein TJ, Melchels FP, *et al.* Effects of scaffold architecture on mechanical characteristics and osteoblast response to static and perfusion bioreactor cultures [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2014, 111(7): 1440-1451.
- [25] McCoy RJ, Jungreuthmayer C, O'Brien FJ. Influence of flow rate and scaffold pore size on cell behavior during mechanical stimulation in a flow perfusion bioreactor [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2012, 109(6): 1583-1594.
- [26] Yao Y, Yu YW, Guo J, *et al.* Prediction of shear stress distribution throughout 3D bone scaffold in perfusion environment [C]//Proceedings of the 2nd International Conference on Image Analysis and Signal Processing (IASP). Xiamen, China: ISAP, 2010: 51-54.