

构建关节软骨的滚压加载装置***☆

张春秋^{1,2}, 樊瑜波¹, 孙明林³, 武汉⁴

A rolling depression loading device for articular cartilage construction

Zhang Chun-qiu^{1,2}, Fan Yu-bo¹, Sun Ming-lin³, Wu Han⁴

Abstract

BACKGROUND: Dynamic mechanical loading devices or bioreactors contain perfusion bioreactor, hydraulic system, and dynamic compression device, shear system, stretching device or the combination of some devices. However, all these devices can not characterize the mechanical state of cartilage, and the function of constructed cartilage is far from natural cartilage.

OBJECTIVE: A novel loading device for articular engineering construction was firstly proposed, and to analyze the mechanical behavior of chondrocytes under this loading device.

METHODS: The rolling depression loading device comprised roll controlling system and compression-adjusting system. In roll controlling system, the roller could roll over tissue engineered constructs with uniform velocity via controlling stepper motor and gear. The compressive subsystem could produce uniform, controlled compressions by relatively sliding of two wedge blocks.

RESULTS AND CONCLUSION: Under the device, constructs would endure the dynamical compressive deformation and stress deformation. Finite element analysis showed that the rolling depression load provided constructs with complex mechanical conditions, namely, pressure-tensile stress presented alternately on the superficial zone of tissue engineered constructs, -45° to $+45^\circ$ periodic changed angles could be found between rolling-direction plane and surface in the mesopelagic zone, and compressive stress presented in the deep layer, which closely to the X, Y, Z-directions. The loading mode of this device is consistent with articular mode, thus, it may benefit the functional construction of engineered cartilage.

Zhang CQ, Fan YB, Sun ML, Wu H. A rolling depression loading device for articular cartilage construction. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(15): 2688-2691. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

¹School of Biological Science and Medical Engineering, Beihang University, Beijing 100191, China;

²School of Mechanical Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300191, China;

³Medical college of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China; ⁴China-Japan Friendship Hospital, Jilin University, Changchun 130025, Jilin Province, China

Zhang Chun-qiu☆, Doctor, Associate professor, School of Biological Science and Medical Engineering, Beihang University, Beijing 100191, China; School of Mechanical Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300191, China
zchunqiu@sohu.com

Correspondence to: Fan Yu-bo, Professor, School of Biological Science and Medical Engineering, Beihang University, Beijing 100191, China
yubofan@yahoo.com

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 10872147*, 30772209*; Natural Science Foundation of Tianjin, No. 09JCYBJC1400*

Received: 2009-12-12
Accepted: 2010-01-17

摘要

背景: 通常使用的加载装置或反应器有灌流式生物反应器、液压系统、直接动态压缩装置、剪切系统、拉伸装置或其中部分的组合。以上每一种载荷单独作用都没有实现软骨功能化培养, 但即使是这几种的组合也不足以表征软骨的力学状态, 构建的软骨功能与天然软骨仍有较大差距。

目的: 首次提出和研制了一种用于关节软骨构建的滚压加载装置, 并在滚压加载条件下分析软骨的受力状态。

方法: 该装置包括滚动控制系统和压缩调节机构。滚动控制系统通过步进电机、丝杠控制辊子滚动速度, 由齿轮和齿条啮合形成辊子纯滚动, 辊子能够以均匀速度滚过培养物。压缩调节机构通过楔形滑块的相对滑动可以保证工作面平行升降, 从而可以对培养物产生均匀、可调的压缩量。

结果与结论: 该装置对培养物提供了滚压的力学条件, 使培养物处于动态压缩变形和剪切变形的复合加载过程。在滚压的力学条件下, 有限元分析表明培养物受到复杂力学状态。培养物浅表层受到交替出现的压力、拉应力; 中层在滚动方向平面内应力与表面有一定夹角, 角度由 -45° ~ $+45^\circ$ 呈周期变化; 深层处应力都为压应力, 与3个坐标轴方向接近。该装置的加载运动方式与关节的运动方式一致, 滚压加载可能有利于功能化关节软骨结构、功能的构建。

关键词: 关节软骨; 软骨组织工程; 滚压加载; 功能化构建; 数字化骨科

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.15.007

张春秋, 樊瑜波, 孙明林, 武汉. 构建关节软骨的滚压加载装置[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(15):2688-2691. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

0 引言

当前, 软骨组织工程正成为一种永久修复组织缺损的理想方法, 在种子细胞、支架材料、生长调节因子、组织构建方面都已取得巨大的进展^[1-2], 但培养的人工软骨在结构和功能上与活体软骨还有较大的差距, 这直接影响了软骨组织工程在临床上的应用。

关节软骨为人体的承力组织, 力学支撑、减缓冲击、减小摩擦成为软骨组织的主要功能。软骨的生长、发育和维持正常生理活动都需要

生理载荷的作用。体内研究表明, 关节制动或运动过度都会对关节软骨产生不利影响^[3]。关节软骨组织的结构与功能是与力学环境相适应的。合适的力学环境成为有生理结构和功能人工软骨构建的关键^[4]。研究者采用不同力学条件的加载装置或生物反应器^[4-8], 尝试培养功能化人工软骨, 这些加载装置或反应器有灌注式生物反应器、液体压力系统、拉伸装置、直接压缩或变形装置或者其中的部分组合。其中流体剪应力、液体压力或直接动态压缩的培养条件正被广泛研究^[9]。采用上述加载装置或生物反应器还没有实现功能化关节软骨构建和临床要求。

特定力学环境能驱使人工软骨向有生理结构和力学功能方面生长。人体膝关节的活动主要由股骨远端与胫骨近端相对运动产生。股骨远端与胫骨近端相互接触, 有两种相对运动, 一种是滚动, 另一种是滑动^[3,6]。滑动对软骨产生变形剪切, 而滚动实际是一种滚压过程, 软骨即受到直接压缩, 也获得变形剪切。因此滚压过程是关节软骨受力的典型代表。通过对关节运动方式的研究, 按着组织工程构建的仿真原理, 作者提出滚压加载用于关节软骨的构建, 这种滚压加载可能更适合人工关节软骨的构建。

1 实验方法

1.1 整体描述 滚压加载装置的整体结构见图1。

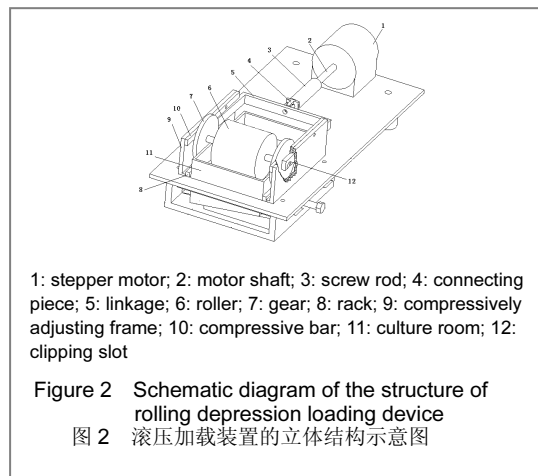


Figure 1 The photograph of the rolling depression loading device
图1 滚压加载装置的实物图

从功能上主要分为两大机构: 滚动控制系统和压缩调节机构。滚动控制系统是由步进电机带动丝杠, 驱使辊子来回滚动实现的, 而压缩控制机构是在辊子滚过培养物时通过调整培养物压缩量实现的。该滚压加载装置从结构工程上分为机械结构部分和电子控制部分。装置是以一块方形底板为框架, 压缩调节机构和滚动控制系统固定在底板上, 其中滚动控制系统通过导线连接控制箱。该装置(除滚动控制箱外)外形尺寸(200 mm×140 mm×160 mm)足够小, 装置工作时较易放入孵箱内。

1.2 滚动控制系统 滚动控制系统(图2中)包括步进电机、电机轴、丝杠、连接件、连杆、辊子、齿轮和齿条, 其中步进电机通过电机轴与丝杠连接, 丝杠的另一端与连杆连接; 连杆的端部设有卡槽, 卡槽的形状为深度切去的环形(图2中剖面), 其形状与辊子的轴端部形状相适应, 辊子的轴端部嵌在卡槽内; 辊子两端有齿轮, 并且同轴; 齿条固定在压缩调节架上, 齿轮与齿条相啮合。辊子专门对培养物实施滚压。步进电机连接丝杠, 丝杠通过曲柄连杆连

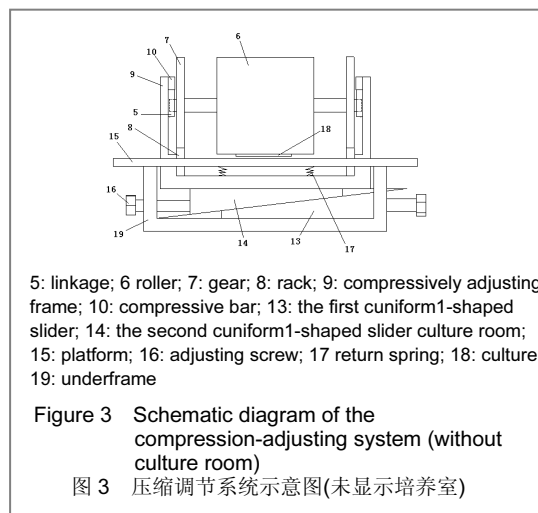
接辊子的轴, 步进电机轴的正、反旋转带动辊子来回滚动。步进电机采用永磁感应子式42BYGH型电机(四海电机电气厂), 静转矩0.42 N·m。电机控制部分主要包括驱动器(SH4012型, 恒压方式驱动)和控制器(SHJSQ66型)。通过控制器可调控辊子滚动速度、滚动加速度、滚动距离和来回滚动的频率。滚动距离可有较大的范围, 这里滚动距离5 mm为例, 来回滚动频率可达0.6 Hz。由于采用丝杠连接, 辊子能够以均匀速度滚过培养物。滚动控制系统的指标: 最大滚距30 mm, 最大速度100 cm/s, 来回滚动最大频率3 Hz。



1: stepper motor; 2: motor shaft; 3: screw rod; 4: connecting piece; 5: linkage; 6: roller; 7: gear; 8: rack; 9: compressively adjusting frame; 10: compressive bar; 11: culture room; 12: clipping slot

Figure 2 Schematic diagram of the structure of rolling depression loading device
图2 滚压加载装置的立体结构示意图

1.3 压缩调节系统 压缩调节机构(图3)包括压缩调节架、调节螺杆、第1楔形滑块、第2楔形螺杆、第1楔形滑块、第2楔形滑块、压板、底架和回位弹簧, 其中压缩调节架具有近似于U形的横截面, 其两个侧臂分别穿过平台上的两个矩形孔, 由平台的下面向上延伸至平台上面, 压缩调节架的两个侧臂的上端内侧分别固定设置有一压板。压板保证连杆的卡槽卡住辊子的轴。



5: linkage; 6: roller; 7: gear; 8: rack; 9: compressively adjusting frame; 10: compressive bar; 13: the first cuniform1-shaped slider; 14: the second cuniform1-shaped slider culture room; 15: platform; 16: adjusting screw; 17 return spring; 18: culture; 19: underframe

Figure 3 Schematic diagram of the compression-adjusting system (without culture room)
图3 压缩调节系统示意图(未显示培养室)

¹北京航空航天大学生物与医学工程学院, 北京市100191; ²天津理工大学机械工程学院, 天津市300191; ³解放军武警医学院附属医院, 天津市300161; ⁴吉林大学中日联谊医院, 吉林省长春市130022

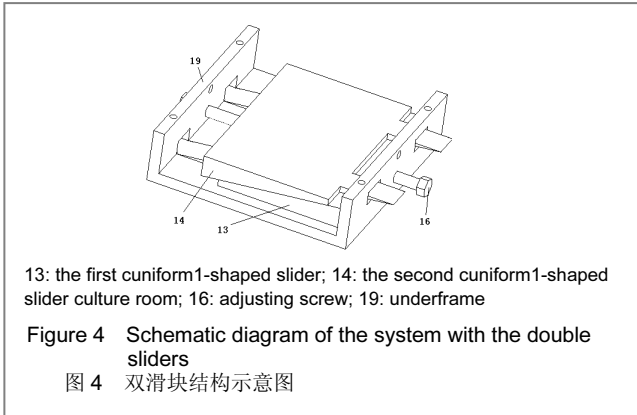
张春秋☆, 男, 1967年生, 吉林省抚松县人, 汉族, 2003年吉林大学毕业, 博士, 副教授, 主要从事生物力学研究。
zchunqiu@sohu.com

通讯作者: 樊瑜波, 教授, 北京航空航天大学生物与医学工程学院, 北京市100191
yubofan@yahoo.com

中图分类号:R318
文献标识码:A
文章编号:1673-8225
(2010)15-02688-04

收稿日期:2009-12-12
修回日期:2010-01-17
(20091214001/GW-Z)

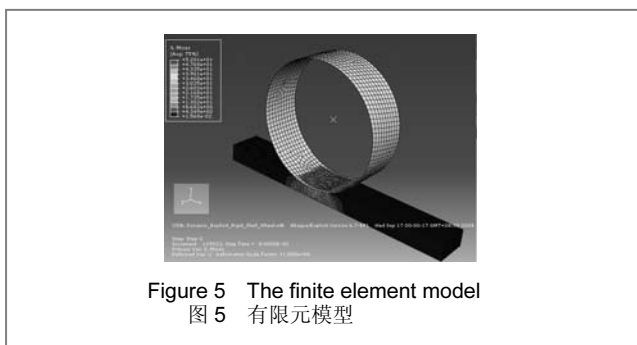
在底架内设置(图4)有两个楔形滑块, 一对调节螺杆固定在底架的两侧, 两个调节螺杆分别与两个楔形滑块连接, 压缩调节架的腰部上面通过回位弹簧与平台的底面连接。



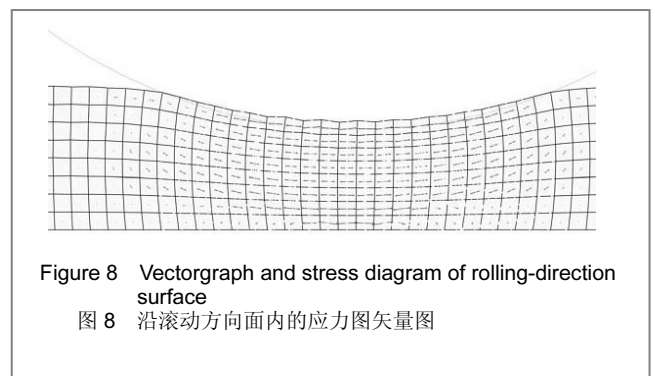
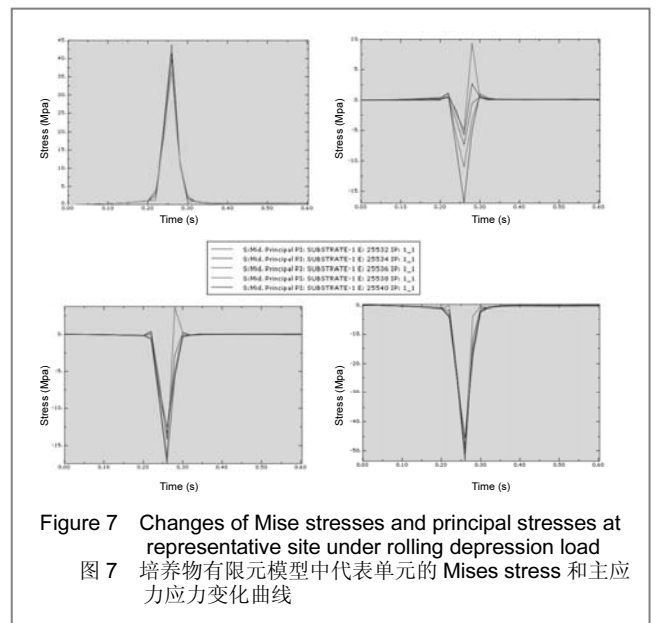
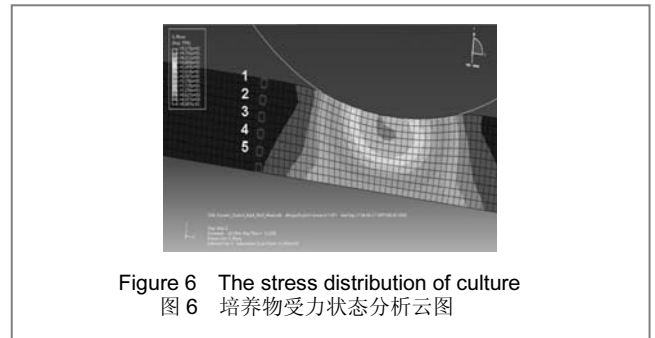
当调节螺杆向内旋转, 推动第1楔形滑块在第2楔形滑块的斜面上滑动, 第1楔形滑块整体升高, 从而使压缩调节架上升。辊子与压缩调节架在垂直方向上位置保持不变, 辊子与底板的距离就增加, 培养物的压缩量就变小。当调节螺杆向外旋转时, 拉动第1楔形滑块在第2楔形滑块的斜面上向下滑动, 第1楔形滑块整体下降, 回位弹簧推动压缩调节架下降, 从而减小了辊子与底板的距离, 培养物的压缩量增大。同理, 也可以通过调节另一调节螺杆推动压缩调节架上升、下降, 这样就实现了培养物的不同压缩量, 压缩距离最大4 mm。压缩调节系统通过楔形滑块的相对滑动可以保证工作面平行升降, 从而可以对培养物产生均匀的、可调的压缩量。

1.4 附属部件 附属部件主要包括培养罩、培养室、位置固定压片和压紧部件; 另外还有培养物成型的模具等。

1.5 培养物力学状态分析 辊子采用刚性圆筒($\phi = 30\text{ mm}$), 培养物的三维尺寸为 $60\text{ mm} \times 8\text{ mm} \times 4\text{ mm}$, 各项同性弹性材料, 弹性模量为 0.8 MPa , 泊松比为 0.32 , 摩擦系数为 0.02 。圆筒滚动速度 2.666 rad/s , 压缩量为 0.8 mm , 是培养物高 4 mm 的 20% 。有限元模型 $38\ 745$ 个采用六面体单元, 825 个刚性壳单元。边界条件为: 培养物底部全部固定; 刚性圆筒运动分为两步, 一是压缩培养物 20% , 二是保持压缩不变条件下滚压通过培养物。培养物的受力状态云图见图5。



沿滚动方向取培养物中间位置作为培养物应力状态分析的对象见图6。从滚压面向下第一层单元开始, 隔一单元取一单元, 作为应力状态研究的代表单元, 共取五个单元。图7为五个单元随时间应力变化曲线, 包括Mises, 主应力应力变化曲线, 图8滚动方向的应力图矢量图。



有限元分析表明: 在滚压的力学条件下, 培养物受到复杂力学状态。按培养物受力状态从上向下的顺序, Mises stress变化过程相似, 这种指标显示不出力学状态的差别; 第一主应力在滚压前方为负, 后方为正, 随深度增加都变为负值, 越向下绝对值越大, 数值差别较大;

第二主应力与第一主应力的应力曲线相似, 但数值差别较小; 第三主应力都为负, 随深度增加负应力的绝对值变大(见图7)。同样按培养物受力状态从上向下的顺序, X方向的应力与第二主应力的变化曲线相似; Y方向的应力与第三主应力的变化曲线相似; Z方向的应力与第一主应力的变化曲线相似; 这说明培养物的主应力基本上与坐标轴方向一致。培养物的浅表层、中层和深层都存在不同的力学环境: 平行培养物上表面的平面内, 浅表层受到压、拉应力交替出现; 中层在滚动方向平面内应力与表面有一定夹角, 角度由 -45° ~ $+45^{\circ}$ 周期变化(见图8); 深层处应力都为压应力, 与三个坐标轴方向接近。

2 讨论

滚压加载装置优点一是采用丝杠控制辊子滚动速度, 形成了辊子能够以均匀速度、来回滚过培养物; 二是通过楔形滑块的相对滑动可以保证工作面平行升降, 从而可以对培养物产生均匀的、可调的压缩量。

滚压加载装置是模仿人体膝关节相对运动而研制的, 其提供的力学环境更接近关节软骨的生理环境。装置对培养物形成复杂的力学环境, 主要形成最直接压缩和变形剪切, 这与当前加载装置或反应器是有较大区别。通常使用的加载装置或反应器有灌流式生物反应器、液压系统、直接动态压缩装置^[7,9]、剪切系统^[8], 拉伸装置或其中部分的组合。动态压载荷更接近活体软骨受力状态, 可引起培养物直接压缩变形, 是软骨受力作用的综合指标, 它可引起软骨内细胞直接变形、液体压力梯度、间隙液体流动和流动势能。动态压载荷条件下, 每种力学激励的单独作用效果很难测量, 因为几种力学激励同时发生, 相互影响。动态压缩在一定幅值和频率范围内促进了培养物的生长。这种有效的压缩载荷指标主要有: 频率0.000 1~3.000 0 Hz, 应变幅值0.001~0.250^[7]。但动态压载荷有缺陷, 一是培养物所受压力不均, 加载中心处压力较高, 培养物周边压力最低, 细胞受到径向不同的液体压力; 二是压载荷引起的传质不均, 培养物中心传质仍受到限制, 因此培养物生长的均质性受到影响。变形剪切也是一种力学作用的综合指标, 最近也被用于软骨构建的实验研究^[8]。各种加载方式或生物反应器的总结不难看出, 流体剪应力、液体压力、拉伸、直接压缩、变形剪应力等分别都是活体软骨受力状态的部分体现, 也说明了这些载荷对软骨培养都有影响的缘由。其中有的载荷对软骨培养的正向影响大, 是几种力学激励的综合指标, 如直接压缩载荷。作者认为: 由于软骨细胞受力的多样性, 而且相互作用, 有较大变化范围, 精细研究每种力学激励的作用效果对软骨构建是徒劳, 应确定一个宏观、综合载荷指标研究软骨构建。载荷是一个综合指标, 它的作用包括细胞的

直接变形、水压力, 流体剪应力的力学作用, 但还没有全面反应软骨的力学状态。而滚压载荷是一个可以全面包括软骨微观受力状态的综合指标, 可能有利于软骨结构和功能的形成。应用于软骨培养中, 辊子滚压一方面对培养物产生直接压缩和剪切变形, 对培养物内细胞以直接应变激励; 同时在辊子与培养物接触区, 变形产生液体压力梯度, 引起培养物内部孔隙液体流动, 产生流动剪应力; 另外也增进培养物内部和外部的传质过程。

有限元仿真表明: 滚压载荷下培养物的力学状态较复杂, 浅层、中层和深层力学状态各不相同, 这些不同力学状态驱使培养物浅层、中层和深层构建的结构和功能不同。培养物各层结构和功能不同与活体软骨各层的不同是一致的。

3 参考文献

- [1] Cao YL. Shanghai: Shanghai Kexue Jishu Chubanshe. 2004:1-74. 曹谊林. 组织工程学-理论与实践[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004:1-74.
- [2] Yang ZM. Beijing: Huaxue Gongye Chubanshe. 2002:1-5, 337-345. 杨志明. 组织工程[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002:1-5, 337-345.
- [3] Butler DL, Goldstein SA, Guilak F. Functional tissue engineering: the role of biomechanics. J Biomech Eng. 2000;122:570-575.
- [4] Prendergast PJ, McHugh PE. Topics in bio-mechanical engineering. Proceedings of the 1st symposium on Biomechanical Engineering. TCBE & NCBES: Dublin & Galway. 2004:94-146.
- [5] Schulz RM, Bader A. Cartilage tissue engineering and bioreactor systems for the cultivation and stimulation of chondrocytes. Eur Biophys J. 2007;36(4-5):539-568.
- [6] Orthopaedic basic science: biology and biomechanics of the musculoskeletal system. Second edition. Joseph A. Buckwalter, Thomas A. Einhorn, Sheldon R. Simon. 2000. 陈启明, 梁国穗, 等译. 骨科基础科学-骨关节肌肉系统生物学和生物力学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003:420-480.
- [7] Darling EM, Athanasiou KA. Review-Articular Cartilage Bioreactors and Bioprocesses. Tissue Eng. 2003;9(1):9-26.
- [8] Jin M, Emkey GR, Siparsky P, et al. Combined effects of dynamic tissue shear deformation and insulin-like growth factor I on chondrocyte biosynthesis in cartilage explants. Arch Biochem Biophys. 2003;414(2):223-231.
- [9] Hung CT, Mauck RL, Wang CC, et al. A paradigm for functional tissue engineering of articular cartilage via applied physiologic deformational loading. Ann Biomed Eng. 2004;32(1):35-39.

来自本文课题的更多信息——

基金资助: 国家自然科学基金(10872147)“滚动载荷用于功能化关节软骨构建的研究”项目; 天津市自然科学基金项目“滚压载荷促进关节软骨功能化生长的研究(09JCYBJC1400)”; 国家自然科学基金(30772209)“体外骨组织工程化培养中组织空心化现象机理的研究”。

利益冲突: 无利益冲突。

课题的创新点: 课题主要在方法上创新, 提出新的滚压加载条件下人工软骨的构建方法, 这种加载方式可能有利于功能化关节软骨结构、功能的构建。

课题评估的“金标准”: 课题主要结果指标评价是否能够有效进行功能化关节软骨结构、功能的构建。

设计的偏倚与不足: 本实验是课题进行研究的平台, 为生物学实验建立力学基础。

提供临床借鉴的价值: 课题研究成功可促进软骨组织工程的临床应用。该方法滚压加载条件可能用于其他方面的研究。