

生物力学与骨组织工程*

王远亮 蔡绍哲

重庆大学生物工程研究院和国家教委生物力学及生物流变学开放实验室, 重庆 400044

摘 要 组织工程是生物工程中的一个重要部分, 是多学科交叉而形成的新兴工程技术学科. 从生物力学角度研究组织工程有特殊意义, 因为生物力学在生长、重建和成形方面发挥着极其重要的作用, 而组织工程需要这些知识来研究和制造组织. 文章介绍了组织工程的概念和生物力学的作用, 主要讨论骨的生长、重建、成形和骨的组织工程中的一些重要问题.

关键词 生长, 重建, 成形, 组织工程, 生物力学

1 前 言

正处在世纪之交的科学界似乎有了一个共识, 那就是 21 世纪将是生物工程学产生重大突破与进展的重要历史时期. 生物工程如果从分子尺度及其结构层次来考察, 可划分为生物分子工程, 细胞工程和组织工程^[1]. 生物分子工程主要是生物大分子的工程, 包括生物膜工程, 酶工程, 蛋白质工程, 基因工程等. 它们在生物工程领域占有极重要的地位, 至今已取得了许多重要进展, 甚至可以克隆出猪、牛、羊等转基因动物. 毫无疑问, 这些进展对人类的进步将产生重要影响, 然而这也远非生物学问题的全部, 分子水平上的化学作用往往只是问题的一个重要方面, 而分子的凝聚态, 聚合物, 分子构成的细胞及其生命活动, 分子和细胞共同构成的组织和器官却往往不能单从化学角度作出较完满的解释, 其中必定还有另外的重要基础因素起作用. 越来越多的证据表明, 力学在生命活动的整个过程中发挥着功能.

例如在分子水平的高级结构上, DNA 分子超螺旋化的主动因素是什么? 它们又如何被压缩到核小体中去? 细胞中的膜脂何以如此高度有序的排列而且巧妙地组装成细胞? 纤维状分子何以高度有序地排列构成组织? 等等. 已有的知识表明: 虽然分子的构型构象及有序排列与化学的一级结构相关, 但是分子的高级结构的构型, 还取决于应力. “重力, 流体流动产生的力, 或细胞受张力作用都可能改变细胞形态, 转变细胞核的功能, 调变细胞间不同的基因程序”^[2,3]. “力学信号传递是结构耦合力的传递, 比化学信号传递 (扩散) 途径快些”^[2,3].

我们实验室的研究还表明, 生命中的粘附是一个普遍现象, 粘附分子决定着粘附的类型与粘附辨识过程, 但粘附力决定着细胞的活动, 组织的构建及成形 (包括形态发生), 归根到底粘附的力学与生命的活动及正常与否紧密相关.

收稿日期: 1997-05-04, 修回日期: 1998-01-04

* 国家自然科学基金重点项目 (19732003), 重庆市应用基础研究基金资助项目

所以在生物体中化学作用和力学作用两者都是重要的。“如果说生物化学极大地推动了 20 世纪生物科学的进步，那么对于 21 世纪生物科学的发展，生物力学和生物化学相结合将会发挥大于人们所想象的作用^[2]”。由此可以认为在生物工程中，生物力学是不可缺少的基础理论支撑。

组织工程是生物工程的一个部分^[1]，甚至“组织工程”这个名词及其内涵都是美国生物力学界的科学家们与生物工程专家们共同劳动的结晶。所谓“组织工程乃是运用工程学与生命科学的原理和方法，从根本上了解正常与病理组织的结构-功能关系，从而研制恢复，维持或改进组织功能的生物学替代物^[4]”。

这就指出，组织工程是一门新兴的多学科交叉的技术科学，它不仅是要研究生命体的结构-功能关系，更重要的是制造出能恢复，维修，或改进组织功能的生物学制品。由于分子和细胞生物学、生物力学、生物医学工程学、生物材料学等学科知识的丰厚贮备，组织工程自诞生后就得到迅猛异常的发展。有资料显示，至 2000 年美国的相应市场将达 27 亿美元，自 1990 年生物活性皮肤产品进入市场以来，用于软骨修复，造血细胞分离，癌症免疫调节治疗的组织工程产品正向市场迈进。下世纪初期优质器官替代物及其治疗技术很可能推向市场。

同时，组织工程可能导致医疗技术的革命。有科学家预计，“在未来的 30 年，医学将走出器官移植的范畴，进入制造器官的时代^[5]”。但是组织由细胞及其胞外纤维性基质的有序排列构成，是细胞在基质上活动的结果，涉及生长，重建和形态发生（成形）等。在生物力学上可以将生长定义为质量变化^[6]，同理重建可以看作是性质变化，成形则是形态的变化。已知生长和重建受应力之类的力学因素调节^[7]，形态又决定于其力学环境^[2,3]，那么应力（应变）决定着生长、重建、成形。由于生长、重建和成形是组织工程的核心内容，因此生物力学就理所当然地成为组织工程的重要支撑理论之一。本文从生物力学角度介绍组织工程，这一部分将可贵的篇幅留给骨的生长、重建和成形。

2 骨组织的生长、重建和成形

人体是一个最完美的功能自适应系统。在功能适应性的研究中，肌肉骨骼系统最受关注。宏观上，骨有密质骨和松质骨之分。关于骨组织的生物力学研究史，Roesler^[8]曾有过十分精彩的评述。用物理学术语表达生物学的发现曾认为是 17 世纪生物学的最重大进步；而增加载荷则可以增加骨骼肌质的现象记述也有几千年的历史，而载荷与骨尺寸间的关系的认识却只有数百载^[9]；作为骨的内部重建可用 Wolff 定律描述，即松质骨中的小梁骨按主应力方向排布，而且当载荷环境改变时，小梁骨将按新的应力轨线重新取向^[6]。这被后来的 Koch^[10]所证实。根据详细的形态测定与骨的应力分析证明符合 Wolff 定律。后来的研究者们又从中得到了骨组织的优化结构（即以最少的材料构成最大的强度）的思想^[10~13,6]。这是一个典型的结构-功能受生物力学控制的例子。所以 Wolff 定律持续发展至今，在骨生物力学中占有重要地位^[14]。下面在介绍与骨组织工程相关的问题之后，再讨论骨组织工程问题。

从生命意义上讲，骨并不是简单的复合材料，可以认为是破骨细胞与成骨细胞处于活性平衡状态的一种平衡体，也是细胞-基质的有序复合体^[15]。生物力学的研究表明，力学因素确实是在骨的生长、重建和成形中起十分重要的作用，但起决定作用的力学参量至今还无法确认是应力、应变还是应变能密度。虽然应力伸展活化了骨中细胞的受体，但能够测出的是应变，故应变是可能的刺激量^[16]。然而通过 24 个不同参数的生物力学模型，用组合理论和实验的方法检验，结果却认为对骨重建产生影响的是应变能密度、纵向剪应力、最大张应力/应变^[17]。还

有一种可能是骨细胞内部的流体剪应力引起骨的重建^[18,19]。目前已知的这些研究理论模型还没有一个能解释全部已知的实验事实,然而毫无疑问骨组织中生物力学扮演着十分重要的角色。

2.1 骨的生长

关于骨的生长,曾经认为有表面生长和内部生长之分,并且以重建(remodeling)来加以描述^[20]。按照现在给予生长的定义,骨的生长可以认为都是在表面进行的,即使是内部生长也是在内部表面(如小梁)上的骨沉积现象,或是在破骨细胞凿出的沟洞/槽的壁面上生长的。骨表面生长所建立的模型都假定有一个或多个应力或应变的生长平衡态存在。所谓生长平衡态是指这样一组条件,在此条件下骨组织无净沉积(生长)或吸收(负生长),其生长速率为零。生长平衡态由生物反馈控制系统维系,是以特殊构造为特征的^[16]。骨生长的第一批定量模型之一是以压电性为基础的。压电性即是给生物组织施加应力时产生了电流的现象^[21~25]。该定量模型因仅重视剪应力而与实验不一致。尽管如此,这项工作的研究给出了下述重要事实:一是负电性载荷能导引骨的沉积,而正电荷很少有此作用^[26];二是表面生长速率与极化矢量相关,而极化矢量又由应力状态决定^[27,28]。此后又有实验证明,应力产生的流动电势(streaming potentials)支配压电效应^[29]。所以该理论模型经改进后发展成为力电模型^[20~25,30],亦称混合式理论,那是因为该理论认为骨是流体-固体混合成份。这些理论模型各自发展,当进行到与细胞水平关联起来时,我们预计它们会融合成统一的理论。这种趋势有待进一步工作的证明。

Wolff 定律是由 Wolff 的轨线假说,Roux 的功能适应性理论,Bourgerly 或 Bell 的最大-最小原理融合而成的^[11]。对于骨的表面生长,按 Cowin 和 van Buskirk^[31]的观点,生长速度应与应变呈线性相关,可表达为

$$v(n, x_0, t) = C_{ij}(n, x_0) [\bar{\epsilon}_{ij}(x_0, t) - \bar{\epsilon}_{ij}^0(x_0)] \quad (1)$$

其中 v 为位置 x_0 处表面 n 方向(法向)上的生长速度, C_{ij} 定义为生长速率系数, $\bar{\epsilon}_{ij}$ 为直角坐标系中应变分量,而 $\bar{\epsilon}_{ij}^0$ 为生长平衡应变, t 为时间。由这个关系式推广,表面生长与表面的局部应变场有关, $v > 0$ 对应于骨沉积,反之 $v < 0$ 则骨吸收。如果用等应力假设,则 v 正比于应力的 Laplace 算子^[32]。若限于小面积位移,并把骨简化为横观各向同性的空心圆柱体,空腔内置一种植针,且针为各向同性实心圆柱体时,利用线弹性方程(1)演算,表明骨的内外半径是时间的函数;根据轴向载荷求得的解表明骨内外膜面必定向外运动,而且骨内膜面随时间推移而必定向外运动(即移植针松动),这个结果与临床观察的结果一致^[31]。

但是,给长骨施加轴向压缩力时,其长骨表面的运动方向在实验中观察有很大的不确定性^[33]。这可能意味着生长应具有非线性行为^[20]。于是运用相平面技术研究非线性问题,求得 8 个稳定解^[33],这些解对应于不同的生长图式,而且与骨内外膜的生长速率系数和轴向应力的大小有关。在此之后 Cowin 等^[34]用真实骨的横切面几何构形,调节方程(1)中的生长速率系数,希望使计算的形状变化能模拟出实验观察的结果,为此就需要在骨内外膜面上设定不同系数值。显然这是非常麻烦的事。

为了解决此问题,可以用两条途径拓宽并修改方程(1)^[35]。第一条途径是令方程(1)中的剪切项为二次的,那么生长就应该与剪切方向无关;第二条途径是将生长平衡应变限制在一个确定的范围。例如令 $\bar{\epsilon}_{ij}^+$ 和 $\bar{\epsilon}_{ij}^-$ 表示平衡应变的上下边界,对所有的 i, j , 当 $\bar{\epsilon}_{ij}^- < \bar{\epsilon}_{ij} < \bar{\epsilon}_{ij}^+$ 时有 $v = 0$, 这就意味着应变落在“死域”(dead zone)内^[36](但骨未真正死)。于是方程(1)可改写为^[35]

$$v = \bar{\epsilon}_{11}^+ \left(\bar{\epsilon}_{11} - \bar{\epsilon}_{11}^+ \right) + \dots + \bar{\epsilon}_{12}^+ \left(\bar{\epsilon}_{12} - \bar{\epsilon}_{12}^+ \right)^2 + \dots \quad (2)$$

式中 $\bar{\epsilon}_{ij} - \bar{\epsilon}_{ij}^+$ 表示 $\bar{\epsilon}_{ij}$ 超过上界或下界的量。将方程(2)用于薄壁管受扭转的生长时,预计在扭转大于生长平衡的限制(约束)时管壁中部半径增大,且壁变薄^[35]。

2.2 骨的重建

关于骨的重建已提出两个理论. 一是适应性弹性理论 (adaptive elasticity theory)^[37~39], 它把平均应变当做重建的主要力学因素; 另一是骨维修理论 (bone maintenance theory)^[40~43], 它则对重建刺激的整个历史作平均考察. 前者可以把结构张量 (fabric tensor) 用于小梁取向变化的描述, 后者用于对骨发育, 适应性及骨折愈合的描述.

2.2.1 适应性弹性理论

骨的内部重建包括小梁构造, 表观密度或物质性能等的变化. 应该说 Wolff 的轨线假说是关于骨重建的最早例证. 但第一次作数学严格描述的还是 Cowin 和 Hegedus^[37].

Cowin 及其同事把骨当作多孔弹性的双相 (固体相和流体相) 材料. 当加载时, 两相之间进行物质交换乃至产生化学反应, 由此而改变骨的孔隙率或表观密度. 这些变化相对于加载速率而言都是缓慢的, 且受局部应变的控制. 用连续介质力学的规范观念, 从热力学方程出发可以导出一组控制方程^[37]. 如果以 ϕ_0 作为参考态的固体体积分率, 显然固体体积分率的变化 $e = \phi - \phi_0$, 按照线性适应性弹性理论^[38], 对于小应变则有

$$\sigma_{ij} = (\phi_0 + e) C_{ijkl}(e) \epsilon_{kl} \quad (3)$$

$$\dot{e} = a(e) + A_{ij}(e) \epsilon_{ij} \quad (4)$$

其中 C_{ijkl} 为各向异性材料的弹性系数, a 和 A_{ij} 为重建速率系数. 当 e 也小时, 方程 (4) 可进一步写为^[38]

$$\dot{e} = a_0 + a_1 e + a_2 e^2 + \left(A_{ij}^0 + e A_{ij}^1 \right) \epsilon_{ij} \quad (5)$$

若令 $\phi_0 = 1$ 且 $e = 0$, 方程 (5) 就还原成 Hook 定律. 因此尽管 ϵ_{ij} 和 e 都是小的, 该理论仍是非线性的, 已有许多论述^[20].

方程 (5) 表达构成了后继骨重建研究模型的基础. 例如 Cowin 和 van Buskirk^[44]将方程 (5) 用于检验种植针问题中的重建, 即将一个固体圆柱体强迫插入空心圆柱体中, 进行稳定性分析, 结果表明该种植针可能引起骨的刚性在局部区域下降, 或引起孔隙率的上升或下降 (均是病理状态).

另一研究例子是施加恒定的轴向压缩载荷时初期均匀、正交各向异性圆柱体 (骨) 的重建行为^[45]. 当时间 $t = 0$ 时, e 在径向呈正弦变化, 所以认为 $C_{ijkl}(e)$ 是在一种特殊状态 (特化); 当 $t \rightarrow \infty$ 时, e 被进化发展成 (骨的) 近似均匀结构. 这可以解释如下: 在骨质稀疏区, 对于给定的载荷, 由于骨的模量小而使之应变较大; 较大的应变导致较大的重建速率 \dot{e} , 从而使骨质增加 (即骨被刚性化); 骨的刚性化导致应变下降, 从而使重建速率 \dot{e} 随之下降. 而在骨质密实区, 情况则相反. 最终 \dot{e} 将趋近于零, 即达到一种平衡态.

2.2.2 骨维修理论

骨出现微裂痕时进行修复的过程叫做骨的维修过程^[40,41], 因此骨的重建可以认为是一个连续维修的过程. 按此观点, 骨在生命期中的反复的力学载荷使骨产生微观损伤, 那么重建便是修复微损伤. 从而可以导出一个假说: 骨以最少的物质量通过重建达到了骨结构的最大完整性^[46].

设定局部重建目标函数 $Q(\rho, \theta, \sigma)$, ρ 为表观密度, θ 为骨材料的轴向取向 (角) 度, σ 为应力张量, 在给定最小约束时进行 Q 优化^[46], 发现 Q 的最可能的候选者有两个, 一是应变能密度 (表征骨的刚性), 一是强度此时 $Q = (\bar{\sigma}/\bar{\sigma}_f)^2$, $\bar{\sigma}$ 为有效应力, $\bar{\sigma}_f$ 为有效压缩造成折裂的应力]. 优化分析的结果表明: 由此两个目标函数都能得到小梁按主应力轨线取向排列的结

果，而且预计的表观密度为

$$= a^{-b} \quad (6)$$

其中 a, b 为常量，而且有 $2/3 \leq b \leq 1$ 相应于刚性优化； $1/2 \leq b \leq 3/5$ 则相应于强度优化。为了深化这个思想以解释骨的全部应力史，定义日重建刺激量为^[47]

$$= K \left[\sum_{i=1}^d n_i \right]^m \quad (7)$$

这里 K, m 为常量， n_i 为第 i 种加载条件时的刺激量， d 代表日（天数）， n_i 为第 i 种加载在一天中的循环次数。

为了确定小梁取向，可以引入用取向角 (θ) 表达的循环正应力

$$\theta_n^* = \left[\sum_{i=1}^c \left(\frac{n_i}{N} \right) / \left(\frac{n_i}{N} \right)^m \right]^{1/m} \quad (8)$$

式中 n_i 为第 i 种加载条件下的正应力， C 为加载条件（如弯曲，压缩等）的数目， N 为 n_i 之和即第 i 种加载条件正应力方向数的总和。据计算^[43]， $C = 1$ 时，小梁沿主应力方向排列即 Wolff 的轨线假说；但 $C > 1$ 时， θ_n^* 不一定正交，实际上 $C = 3$ 的 θ_n^* 的分布与 Wolff 的不一致，而与 von Meyer 的分布图更一致（参见文献 [43]）。

这项研究得到的一个重要的发现是：方程（8）的解不唯一收敛，即平衡态不只一个。当反复计算 3 次后，计算所得密度分布与解剖学上观察的结果相当一致；而反复计算 7 次后的结果又相当的不一致。于是 Carter 等^[43]认为，在如此复杂的非线性系统中，很可能存在一个非重建平衡态（attractor state）。重建在整个生命期中是连续的，而非重建平衡态是不定的，导致方程的无序解。

骨维修理论仍在不断发展过程中，最近有一些新的进展^[36,48,49]，一是把适应性重建论包容在维修论的时间相关重建之中，同时把内部重建看作为内部空腔的表面生长^[48]。这一改进得到两个重要结果：其一是密度分布计算结果包含死域时比不含死域时更切实际；其二是卸载并恢复正常水平时，计算结果预测密度回复，但与原密度分布不同，即骨的完全恢复是不可能的，这与一些临床结果一致^[36]。另一个进展是把重建当作一种不断进行的过程，将重建速率写作为一种积分^[49]，结果也表明后继平衡态不能回到前一平衡水平。

骨的生长和重建的模型对设计假肢是有用的工具。骨移植体由于改变了正应力场，常常对骨的重建产生不利的影晌（例如骨吸收）。这是由于移植体承受了大于骨正常载荷而引起的现象，该现象一般称为应力遮挡（stress-shielding）^[50]。为了减少或克服应力遮挡效应，生物力学家们提出了种种设计观点。

如果把应变能密度 U 作为生长刺激量，则表面生长律可有如下的表达式^[51]

$$v = \begin{cases} C[U - (1+s)U_n] & U > (1+s)U_n \\ 0 & (1-s)U_n \leq U \leq (1+s)U_n \\ C[U - (1-s)U_n] & U > (1-s)U_n \end{cases} \quad (9)$$

显然其中包含有死域（ $v = 0$ ）， e 的内部重建表达式也与此相同。其中 U_n 为 U 的名义生长平衡值， s 为生长阈， C 为常量。结果表明，当施加弯曲矩时在近中心区出现吸收，吸收的程度与 s 的值和移植体的直径有关。

另一种移植体是设计成多孔表面的,目的是使骨能长入孔内,形成一个具有粘附作用的生理界面.运用方程(1),采用边界元模式研究^[52].结果表明,这种种植体的向内生长需要压缩作用.

根据骨维修理论,把三维有限元模型和动物实验结合起来^[53],预测骨围绕移植体最初的生长更为密实,这与实验结果一致,但随着时间的延长,则是移植体远侧刚硬化,于是股骨的该部位承载了较大部分载荷,引起移植体上载荷降低,而导致吸收.因此欲防止假肢针周围的骨吸收,应采用压迫适应性(press-fit)种植体^[53].

2.3 骨的成形

骨生长的生物力学可以为种植体设计及应用与骨折固定和愈合提供理论支持,对骨所处环境给予骨重建及微伤自愈合提供解释.然而对骨组织工程研究而言,除骨的生长与重建之外,骨的成形即从形态发生到形态形成也是重要的.

骨形成为骨骼结构,从胚胎开始就经历了一系列生物学和生物力学过程.当形成骨骼的原基形成后,基本上沿两条途径之一进化,一是膜内骨化过程,另为软骨内骨化过程.利用膨胀和去膨胀的生物力学模型^[54],可以预测骨的成形有轴向的,横向的和纵向的三种分支.横向分支可以形成桡骨和尺骨,而纵向分支可以形成指骨或趾骨.而且研究还表明骨化与静水压有关^[40,41].

欲量化骨的发育,可以引进骨化指数.骨化指数定义为

$$I = \sum_{i=1}^c n_i (S_i + kD_i) \quad (10)$$

其中 n_i 为加载条件 i 的循环数, S_i 为循环加载产生的剪应力, D_i 为循环中的静水压应力, k 为相对权重因子,由实验确定,且 $k \geq 0$.依方程(10),若 $D_i < 0$,即静水压压缩, I 高则相应于加速软骨内骨化,而 I 低则相应于软骨退化^[55].用二维有限元模型研究发现,设置 $k = 0.5$ 时,产生的骨化结构图与在体发现的一致; $k = 0.7$ 时与在体胸骨发育的结果相符.该理论方式还得到离体组织培养实验结果的证实^[56]和支持^[57].

若把时间与形态的形成关联起来,则成熟指数表达式可以扩充为^[58]

$$\frac{dB_j}{dt} = \frac{dB_0}{dt} + CI_j \quad (11)$$

式中 B 为成熟指数, I_j 为时间 j 天时的骨化指数(由式(10)给出), C 为常量, B_0 为未加载时的基本成熟率.另外骨组织的“记忆”衰退按下式计算

$$B_n = \sum_{j=n-n_0}^n B_j \quad (12)$$

B_n 即第 n 天成熟指数, n_0 为骨组织“记住”起始之前的天数.

根据记忆衰退,用三维有限元模型研究软骨原基在五种载荷情况下的骨发育问题,结果表明^[58]: 当一个单元(element)中 B_n 达到某种特化阈值时,该单元的一些性质就向骨性质的方向变化.该过程是连续进行的,而且 B_n 的时间演化预测出初级骨化前缘向骨干发展的进程,次级骨化中心的形成过程,以及关节软骨遗留在骨端的现象.因此可以用表观密度分布预测骨髓腔吸收过程.

显然,理论预示与实验结果良好的一致性支持了这样的观点,该理论模式可以作为骨骼系统发育的构造规则.实验证据进一步提示,该规则符合早期胚胎发育一直到骨成熟,而至生命后期

骨可能退化,甚至骨折愈合的情形也服从这些规则^[55,59]。但是值得指出,这些模式尚未在精细控制的加载条件下进行实验验证,需要进一步的工作。

3 骨组织生物力学的进一步研究课题

如前所述,生物力学已对骨的生长、重建和成形做了许多工作,也是生物力学富有成果而且最早与临床应用紧密结合的一个重要领域。但是值得指出,前述所论骨的生长和重建不包含细胞分裂,而成形则必定有细胞的分裂。更确切地,当骨生长和重建之时,是破骨细胞首先吸收旧骨,通常采用挖地道的方式^[15];其次是成骨细胞产生新骨填满那些通道^[15]。新沉积的骨起初模量相当低,经过矿化和硬化后模量才逐渐增高^[15]。按此方式,若没有残余应力^[6],骨的沉积也能发生。骨沉积和吸收是不断进行的,可能受细胞的调节^[15,60]。因此骨的生长和重建平衡的过程实际上是破骨细胞的活性与成骨细胞的活性相互平衡的过程。那么在细胞水平上的生长的重建平衡研究是未来生物力学面临的重要课题。

虽然骨与血管不同,似乎没有残余应力亦可能生长与重建,但是力学载荷对重建(包括生长在内)具有传导作用,其真实机制是生物力学面临的又一个重要课题。对此,Tretharne于1981年总结出五个模式^[61]:(1)压电电位或流动电位的作用;(2)力学加载造成的疲劳微伤;(3)细胞外流体压力对骨细胞的作用;(4)细胞膜上的直接应力作用;(5)应力改变骨矿物质溶解度。其中他赞同疲劳微伤假说。还有一种可能性,即(6)骨细胞内部流体剪切应力促进了重建,并有实验检验^[18]。目前适应性弹性理论,骨维修理论,力电理论等未能统一这六种模式,那么它们的统一是未来的目标。

考察骨的生长,重建和成形的结构图型,实验观察极为重要。一些实验的力学设计原理已有过许多详细评述^[62~65,10]。但结合上述,尤其是涉及力学传感器(mechanosensor)^[60]就需要新的手段、方法和模型。尤其是组织构建是在细胞和胞外基质,细胞群体等复杂的力学和化学环境之中进行时^[66],Rodriguez等^[7]的弹性软组织应力相关的有限生长的连续介质力学理论可否在骨组织中应用,亦是未来需要检验的重要问题。因此骨组织的应力-生长(包括重建和成形)仍有许多工作要做。

4 骨的组织工程

骨组织造成缺失且不能通过生理重建或维修时需要骨组织工程。例如手术切除(椎板切除就是一种,还有骨瘤切除,截肢等)以及大大超过骨的应力适应范围的猛烈撞击造成的骨缺陷。这样的缺陷需要组织工程材料在骨缺失部位架起连接的桥梁,再让成骨细胞/软骨细胞在其上生长,尔后形成自体组织。这就是组织工程学的方法。从现象学上看,支撑材料的孔隙率,网络结构,材料上种植的细胞密度等有很大的影响^[67~70];从力学上看,这是材料结构应力场对细胞生长成组织的影响。从骨组织的形成过程看,成骨细胞分泌骨胶原纤维构成一个网络,再钙化成骨组织^[15],这也存在应力场随时间变化及对骨组织形成的影响。此外形成骨的细胞与基底的粘附,运动等行为也是力学课题。在骨组织形成过程中,一方面促进胶原蛋白合成及腱生蛋白对组织的形成和形态调节^[71],同时也在改变应力场,这些将是涉及分子-细胞群-组织相关一体的力学问题^[66]。还有肌肉骨骼生长等问题。

骨组织(包括其它组织)缺陷的修复过程本质上是细胞的生物学过程和应力作用下的生长过程。从骨的细胞学水平看,骨从产生乃至在整个生命期中总是在应力/应变场中建造(modeling)和重建(remodeling)。破骨细胞的再现是骨重建的开始。一种假设^[72]认为:变形引起骨内流体运

动. 由于这些流体携带有很多电荷, 于是产生电流和电势. 通过各种相互作用, 骨的细胞接受应变信号. 细胞膜的直接力学变形可能足以活化伸缩敏感的膜受体部位, 或电荷直接作用到破骨细胞的膜上. 这可能就是力学信号由细胞接受后开始骨重建的关系, 也可能是骨功能适应性重建或缺陷修复的细胞学基础. 进一步研究指出^[73]: 由于流体流动, 导致细胞内编码一种转录因子的基因 *egr-1* 的水平增加, 且与酪氨酸激酶 (tyrosine kinase), 胞内钙和血清的浓度有关

下面以关节软骨组织工程的研究为例来具体讨论.

关节软骨是具有承载和分散载荷能力的三维复杂结构. 直到最近才认识到是软骨组成的特殊分区分布构成了软骨的独特力学性质^[74,75], 给软骨组织离体再生提供了基础, 并且开始注意研究再生组织的三维 (3D) 结构^[76,77].

成人关节软骨离体培养可以回溯至本世纪 60 年代早期^[78]. 由于关节软骨的细胞单层培养时无分化作用, 分泌的 II 型胶原少而 I 型胶原多, sGAG (硫酸糖胺聚糖) 也少, 虽然有很多努力致力于软骨再生, 但得到的是纤维性组织, 不能形成自体组织, 因此软骨细胞必须生长在 3D 基质上, 以促进细胞合成基质分子的积累, 并保持细胞的表型^[79,80].

随着可吸收高分子基质的研究与发展, 使能承受应力的 3D 细胞培养成为可能. 美国的一些研究组在软骨离体再生方面产生了重要影响^[76,81,82]. 他们用合成的可吸收高分子 PGA (聚羟基乙酸) 和 PLA (聚乳酸) 等制备 3D 支撑体, 在这些支撑体上培养软骨细胞, 并对一系列影响因素 (如孔隙率, 细胞密度等) 作了研究. 值得注意的是离体的力学加载是使软骨细胞生长成自体软骨的必须条件. 静态压缩加载抑制了 sGAG 的合成^[83,84], 短时间 (少于 48h) 的周期性加载抑制了细胞分化^[38] 并促进了 sGAG 的合成和整个 (离体培养的) 软骨产物的合成^[76]. 间歇压缩加载 (ICF) 改进了 sGAG 的聚集能力, 并能迫使细胞去发育成自体组织, 而且形成区分的区域分布. 由于人体流体近乎于不可压缩的, 纯压缩力不会产生明显的流体运动^[85]. 间隙流体流动力可影响到养分的运输, 能产生压力梯度而使组织变形^[86], 也可以提示细胞对应力有某种特异程度的特异响应^[87]. 无论有无压缩, 流体剪应力使培养中的细胞产生了较大的生长速度^[88], 可推测这是流体流动的剪切增加了对流, 从而改进了质量传递. 这些实验结果不仅对骨组织工程有用, 而且对 3D 细胞培养的装置设计有益.

5 骨组织工程的问题与展望

虽然关于软骨的发育知识已足够使人们把分离的软骨细胞固定多孔质生物可吸收高分子支撑体中离体再生出小片完整组织, 而且在体应用可修复骨组织缺陷^[89], 但是仍有许多问题尚需研究.

1. 目前已成功的报道有鼻子、耳朵的软骨组织工程, 关节软骨细胞和颅盖骨成骨细胞的离体培养有较多的研究, 在体椎骨组织工程修复有一定基础的实践. 然而体内绝大部分的软骨组织和骨组织都生活在应力环境之中, 其中的应力-生长关系和力学-化学相互作用尚未明了.

2. 除应力与生长、分泌等关系的研究之外, 尤其是流动剪应力对分泌的影响有较多的研究, 而应力与分泌纤维成份的含量, 分布与排列即组织形成的影响研究尚少, 而这恰是自体组织形成的必要前提.

3. 应力对细胞作用的传递机理仍然不清楚, 也还不能回答什么细胞在什么力学条件下能形成自体组织的问题等.

综上所述, 在骨组织这个领域虽然生物力学和组织工程的研究都取得了很大的进展, 但也存在不少课题 (参见第 3 和第 5 两个部分) 值得深入研究, 对组织工程而言, 它们是必须解决的问

题;对临床而言,这些问题也是十分重要的。就研究趋向看,生物力学家,细胞生物学家,组织工程学家及医学和临床研究者已对其中部分问题产生兴趣。在我国对应力-生长关系给以足够的重视,相信在未来的3~5年内会取得重要进展。但是正如前言中指出的那样,生长指质量的变化,而重建指性质的变化,成形又以形态的变化表征,因此生长尽管是十分重要的,但不能涵盖重建和成形,虽然它们之间既有内在联系,却又有本质的区别。例如运动中的细胞,它的质量在变化之中,性质和形态也在不断的变化,这就表明生长、重建、成形的动态过程有足够重要的意义,相信这是整个科学界所面临的重大课题。

致谢 感谢徐信院士,王正国院士,陶祖莱教授和吴云鹏教授的鼓励,指点和帮助;感谢卢晓博士从丹麦寄来最新文献;还要感谢国家教委生物力学及生物流变学开放实验室的客座研究员张西正博士的有益讨论和建议。

参 考 文 献

- 1 王远亮,蔡绍哲,赵英. 高技术生物工程的崭新前沿—组织工程. 科技导报, 1998, (2): 14~16
- 2 Maniotis A J, Chen C S, Ingber D E. Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 849~854
- 3 Chen C S, Mrksich M, Huang S et al. Geometric control of cell life and death. *Science*, 1997, 276: 1425~1428
- 4 Nerem R M. Tissue Engineering in the USA. *Med Biol Eng Comput*, 1992, 30: CE8~CE12
- 5 Langer R, Vacanti J P. Artificial organs. *Sci Am*, 1995 (9): 100~103
- 6 Fung Y C. Biomechanics: Motion, Flow, Stress, and Growth. New York: Springer, 1990. Chapter 13
- 7 Rodriguez E K, Hoger A, McCulloch A D. Stress-Dependent finite growth in soft elastic tissues. *J Biomech*, 1994, 27: 455~467
- 8 Roesler H. The history of some fundamental concepts in bone biomechanics. *J Biomech*, 1987, 20: 1025~1034
- 9 Ascenzi A. Biomechanics and Galileo Galilei. *J Biomech*, 1993, 26: 95~100
- 10 Koch J C. The laws of bone architecture. *Am J Anat*, 1917, 21: 177~298
- 11 Huijskes R, Hollister S J. From structure to process, from organ to cell: recent developments of FE-analysis in orthopaedic biomechanics. *ASME J Biomech Eng*, 1993, 115: 520~527
- 12 Turner C H. On Wolff's law of trabecular architecture. *J Biomech*, 1992, 25: 1~9
- 13 Harrigan T P, Hamilton. Bone remodeling and structural optimization. *J Biomech*, 1994, 27: 323~328
- 14 杨桂通,吴文周. 骨力学. 北京: 科学出版社, 1989
- 15 Buckwalter J A, Glimcher M J, Cooper R R, Recker R. Bone Biology. *J Bone Joint Surg*, 1995, 77A: 1256~1275; 1276~1289
- 16 Cowin S C. Mechanical modeling of the stress adaptation process in bone. *Calcif Tissue Int*, 1984, 36: S98~S103
- 17 Brown T D, Pedersen D R, Gray M L et al. Toward an identification of mechanical parameters initiating periosteal remodeling: A combined experimental and analytic approach. *J Biomech*, 1990, 23: 893~905
- 18 Weinbaum S, Cowin S C, Zeng Y. A model for the excitation of osteocytes by mechanical loading-induced bone fluid shear stresses. *J Biomech*, 1994, 27: 339~360
- 19 Hillsley M V, Frangos J A. Review: Bone tissue engineering: The role of interstitial fluid flow. *Biotech Bioeng*, 1994, 43: 573~581
- 20 Cowin S C. Bone stress adaptation models. *ASME J Biomech Eng*, 1993, 115: 528~538
- 21 侯振德,高瑞亭. 骨的力电性质. 力学进展, 1995, 25: 85~101
- 22 Salzstein R A, Pollack S R, Mak A F T, Petrov N. Electromechanical potentials in cortical bone-I. A continuum approach. *J Biomech*, 1987, 20: 261~270
- 23 Salzstein R A, Pollack S R. Electromechanical potentials in cortical bone-II. Experimental analysis. *J Biomech*, 1987, 20: 271~280
- 24 Frank E H, Grodzinsky A J. Cartilage electromechanics-I. Electrokinetic transduction and the effects of electrolyte pH and ions strength. *J Biomech*, 1987, 20: 615~627
- 25 Frank E H, Grodzinsky A J. Cartilage electromechanics-II. A continuum model of cartilage electrokinetics and correlation with experiments. *J Biomech*, 1987, 20: 629~639
- 26 Bassett C A L. Electrical effects in bone. *Sci Am*, 1965, 213 (4): 18~25
- 27 Gjelsvik A. Bone remodeling and piezoelectricity-I. *J Biomech*, 1973, 6: 69~77
- 28 Gjelsvik A. Bone remodeling and piezoelectricity-II. *J Biomech*, 1973, 6: 181~193
- 29 Gross D, Williams W S. Streaming potential and the electromechanical response of physiologically moist bone. *J Biomech*, 1982, 15: 277~295

- 30 Guzeisu N, Saha S. Electro-mechanical behavior of wet bone-part I: Theory. *ASME J Biomech Eng*, 1984, 106: 249 ~ 261
- 31 Cowin S C, Van Buskirk W C. Surface bone remodeling induced by a medullary pin. *J Biomech*, 1979, 12: 269 ~ 276
- 32 Tanaka M, Adachi T. Preliminary study on mechanical bone remodeling permitting residual stress. *JSME Int J*, 1994, 37: 87 ~ 95
- 33 Cowin S C, Firoozbakhsh K. Bone remodeling of diaphysal surfaces under constant load: Theoretical predictions. *J Biomech*, 1981, 14: 471 ~ 484
- 34 Cowin S C, Hart R T, Balsler J R, Kohn D H. Functional adaptation in long bones: Establishing in vivo values for surface remodeling rate coefficients. *J Biomech*, 1985, 18: 665 ~ 684
- 35 Cowin S C. Bone remodeling of diaphyseal surfaces by torsional loads: Theoretical predictions. *J Biomech*, 1987, 20: 1111 ~ 1120
- 36 Beaupre G S, Orr T E, Carter D R. An approach for time-dependent bone modeling and remodeling-Application: a preliminary remodeling simulation. *J Orthop Res*, 1990, 8: 662 ~ 670
- 37 Cowin S C, Hegedus D H. Bone remodeling I: Theory of adaptive elasticity. *J Elasticity*, 1976, 6: 313 ~ 326
- 38 Hegedus D H, Cowin S C. Bone remodeling II: Small strain adaptive elasticity. *J Elasticity*, 1976, 6: 337 ~ 352
- 39 Cowin S C, Nachlinger R R. Bone remodeling III. Uniqueness and stability in adaptive elasticity theory. *J Elasticity*, 1978, 8: 285 ~ 295
- 40 Carter D R. Mechanical loading histories and cortical bone remodeling. *Calcif Tissue Int*, 1984, 36: S19 ~ S24
- 41 Carter D R. Mechanical loading histories and skeletal biology. *J Biomech*, 1987, 20: 1095 ~ 1109
- 42 Carter D R, Orr T E, Fyhrie D P, Schurman D J. Influences of mechanical stress on prenatal and postnatal skeletal development. *Clin Orthop*, 1987, 219: 237 ~ 250
- 43 Carter D R, Orr T E, Fyhrie D P. Relationships between loading history and femoral cancellous bone architecture. *J Biomech*, 1989, 22: 231 ~ 234
- 44 Cowin S C, Van Buskirk W C. Internal bone remodeling induced by a medullary pin. *J Biomech*, 1987, 11: 269 ~ 275
- 45 Firoozbakhsh K, Cowin S C. Devolution of inhomogeneities in bone structure-predictions of adaptive elasticity theory. *ASME J Biomech Eng*, 1980, 102: 287 ~ 293
- 46 Fyhrie D P, Carter D R. A unifying principle relating stress to trabecular bone morphology. *J Orthop Res*, 1986, 4: 304 ~ 317
- 47 Carter D R, Fyhrie D P, Whalen R T. Trabecular bone density and loading history: regulation of connective tissue biology by mechanical energy. *J Biomech*, 1987, 20: 785 ~ 794
- 48 Beaupre G S, Orr T E, Carter D R. An approach for time-dependent bone modeling and remodeling-Theoretical development. *J Orthop Res*, 1990, 8: 651 ~ 661
- 49 Prendergast P J, Taylor D. Prediction of bone adaptation using damage accumulation. *J Biomech*, 1994, 27: 1067 ~ 1076
- 50 刘建国, 徐辛香. 应力遮挡效应与骨关节固定综合征. *中华骨科杂志*, 1994, 14: 374 ~ 378
- 51 Huijskes R, Weinans H, Grootenboer H J et al. Adaptive bone-remodeling theory applied to prosthetic-design analysis. *J Biomech*, 1987, 20: 1135 ~ 1150
- 52 Sadegh A M, Luo G M, Cowin S C. Bone ingrowth: An application of the boundary element method to bone remodeling at the implant interface. *J Biomech*, 1993, 26: 167 ~ 182
- 53 Van Rietbergen B, Huijskes R, Weinans H et al. The mechanism of bone remodeling and resorption around press-fitted THA stems. *J Biomech*, 1993, 26: 369 ~ 382
- 54 Oster G F, Murry J D, Maini P K. A model for chondrogenic considerations in the developing limb: The role of extracellular matrix and cell interactions. *J Embryol Exp Morph*, 1985, 89: 93 ~ 112
- 55 Carter D R, Wong M. The role of mechanical loading histories in the development of diarthrodial joints. *J Orthop Res*, 1988, 6: 804 ~ 816
- 56 Klein-Nulend J, Veldhuijzen J P, Burger E H. Increased calcification of growth plate as a result of compressive force in vitro. *Arth Rheum*, 1986, 29: 1002 ~ 1009
- 57 Wong M, Carter D R. Theoretical stress analysis of organ culture osteogenesis. *Bone*, 1990, 11: 127 ~ 131
- 58 Wong M, Carter D R. A theoretical model of endochondral ossification and bone architectural construction in long bone ontogeny. *Anat Emlryol*, 1990, 181: 523 ~ 532
- 59 Blenman P R, Carter D R, Beaupre G S. Role of mechanical loading in the progressive ossification of a fracture callus. *J Orthop Res*, 1989, 7: 398 ~ 407
- 60 Cowin S C, Moss-Salentijn L, Moss M L. Candidates for the mechanosensory system in bone. *ASME J Biomech Eng*, 1991, 113: 191 ~ 197
- 61 Trehanne R W. Review of Wolff ' s law and its proposed means of operation. *Orthop Rev*, 1981, 10: 35 ~ 47
- 62 Carter D R. The relationship between in vivo strains and cortical bone remodeling. *CRC Crit Rev Biomed Eng*,

- 1982, 8: 1 ~ 28
- 63 Lanyon L E. Functional strain in bone tissue as an objective and controlling stimulus for adaptive bone remodeling. *J Biomech*, 1987, 20: 1083 ~ 1093
- 64 Lanyon L E. Functional strain as a determinant for bone remodeling. *Calci Tissue Int*, 1984, 36: S56 ~ S61
- 65 Currey J D. The adaptation of bones to stress. *J Theor Biol*, 1968, 20: 91 ~ 106
- 66 蔡绍哲, 王远亮. 组织工程中的生物力学. 见: 庄逢甘主编. 现代力学与科技进步. 北京: 清华大学出版社. 1997. 229 ~ 231
- 67 Cima L G, Vacanti J P, Vacanti C A et al. Tissue engineering by cell transplantation using degradable polymer substrates. *ASME J Biomech Eng*, 1991, 113: 143 ~ 151
- 68 Vacanti C A, Kim W S, Upton J et al. Tissue engineered growth of bone and cartilage. *Transplant Proc*, 1993, 25: 1019 ~ 1021
- 69 Vacanti C A, Upton J. Tissue engineered morphogenesis of cartilage and bone by means of cell transplantation using synthetic biodegradable polymer matrices. *Clin Plast Surg*, 1994, 21: 445 ~ 462
- 70 Cima L G, Langer R. Engineering human tissue. *Chem Eng Prog*, 1993
- 71 Mackic E J, Ramsay S. Modulation of osteoblast behaviour by tenascin. *J Cell Sci*, 1996, 109: 1597 ~ 1064
- 72 Cowin S C. On the minimization and maximization of the strain energy density in cortical bone tissue. *J Biomech*, 1995, 28: 445 ~ 447
- 73 Ogata T. Fluid flow induces enhancement of the egr-1 mRNA level in osteoblast-like cells: Involvement of tyrosine kinase and serum. *J Cell Physiol*, 1997, 170: 27 ~ 34
- 74 Mow V C, Ratcliffe A, Poole R A. Cartilage and diarthrodial joints as paradigms for hierarchical materials and structures. *Biomaterials*, 1992, 13: 67 ~ 97
- 75 Poole C A, Flint M H, Beaumont B W. Morphological and functional interrelationships of articular cartilage matrices. *J Anat*, 1984, 138: 113 ~ 138
- 76 Freed L E, Marquis J C, Vunjak-Novakovic G et al. Composition of cell-polymer cartilage implants. *Biotech Bioeng*, 1994, 43: 604 ~ 614
- 77 Freed L E, Vunjak-Novakovic G. Tissue engineering of cartilage. In: *Tissue Engineering*. CRC Press. 1995, Chapter 120
- 78 Coon H G. Clonal stability and phenotypic expression of chick cartilage cells in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1966, 55: 66 ~ 73
- 79 Benya P D, Padilla S R, Nimni M E. Independent regulation of collagen types by chondrocytes during the loss of differentiated function in culture. *Cell*, 1978, 15: 1313 ~ 1321
- 80 Horwitz A, Dorfman A. The growth of cartilage cells in soft agar and liquid suspension. *J Cell Biol*, 1970, 45: 434 ~ 438
- 81 Freed L E, Vunjak-Novakovic G. Cultivation of cell-polymer constructs in stimulated microgravity. *Biotech Bioeng*, 1995, 46: 306 ~ 313
- 82 Puelacher W C, Mooney D, Langer R et al. Design of nasoseptal cartilage replacements synthesized from biodegradable polymers and chondrocytes. *Biomaterials*, 1994, 15: 774 ~ 778
- 83 Gray M L, Pizzanelli A M, Grodzinsky A J et al. Mechanical and physiochemical determinants of chondrocyte biosynthesis response. *J Orthop Res*, 1988, 6: 777 ~ 792
- 84 Sah R L, Kim Y, Doong J H et al. Biosynthetic response of cartilage explants to dynamic compression. *J Orthop Res*, 1989, 7: 619 ~ 636
- 85 Veldhuijzen J P, Huisman A H, Vermeiden J P W et al. The growth of cartilage cells in vitro and the effect of intermittent compressive force: A histological evaluation. *Connect Tissue Res*, 1987, 16: 187 ~ 196
- 86 Mow V C, Homes M H, Lai W M. Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage. *J Biomech*, 1984, 17: 377 ~ 394
- 87 Veldhuijzen J P, Bourret L A, Rodan G A. In vitro studies of the effect of intermittent compressive forces on cartilage cell proliferation. *J Cell Phys*, 1979, 98: 299 ~ 306
- 88 Freed L E, Vunjak-Novakovic G, Marquis J C, Langer R. Kinetics of chondrocyte growth in cell-polymer implants. *Biotech Bioeng*, 1994, 43: 597 ~ 604
- 89 王远亮. 椎骨组织缺陷工程化修复材料的合成与应用. [博士论文]. 重庆大学. 1996

BIOMECHANICS AND BONE TISSUE ENGINEERING

Wang Yuanliang Cai Shaoxi

Chongqing University, Bioengineering Research Institute and SECC ' S Open Laboratory of Biomechanics
and Biorheology, Chongqing 400044

Abstract Tissue engineering is an emerging engineering technology and an important part of bioengineering. The studies on tissue engineering by biomechanics is play a vital role in the growth, remodeling, and morphogenesis of the tissue. They are used to make tissues or organs available to replace the damaged ones. In the present paper, some concepts in tissue engineering are introduced and discussed. Some important problems in bone tissues, solved or to be solved, are reviewed.

Key words growth, remodeling, morphogenesis, tissue engineering, biomechanics

(上接第 268 页)

作者谈到,对于机械预测而言,虽然计划已经开始实施并取得了一些进展,但还存在很多挑战。Scheuren 认为,挑战之一是研制一种获得小的、便宜的可用于无绳的(wireless)传感器,并配以可靠的数据汇合的方法。推理算法还必须更加鲁棒(robust)。

另外一个关于机械预测的挑战为使完全确定和跟踪各类系统构件的失效前兆的能力更为完美。这需要一个从运行状态到失效状态连续过渡数据的数据库。到今天,该数据库仍然没有建立。

作者最后谈到,有关失效数据和不断发展的传感器、失效模式、数据汇合及预测技术,使得 PHM 这一革命性的新技术建立在一个科学的基础之上。相信已在美国国防部 JSF 上实施的 PHM 计划也即将在工业界得到广泛推广。