

关节软骨体外构建力学环境的研究进展

张春秋¹, 孙明林², 李江¹, 叶金铎¹, 刘海英¹

(1. 天津理工大学机械工程学院, 天津 300191; 2. 中国人民解放军武警医学院附属医院)

摘要: 很多物理因素都影响软骨组织的生长和发育, 其中力学因素起主要作用。软骨的生长、发育是力学调控的适应过程。当前采用多种力学条件应用于软骨生物反应器, 如流体剪应力、液体压力、直接压缩等, 或其中部分组合, 但这些条件还没有构建出与活体软骨结构-功能相匹配的人工软骨。如果一种载荷能适合构建软骨, 那么这种载荷首先能保证培养物内部信号分子、营养和废物的有效运输; 其次, 能对支架内种子细胞特定的力学刺激; 第三, 能促进培养物结构-功能的发展。本文回顾、分析当前多种力学条件的作用效果, 其中流体剪应力、液体压力、拉伸、直接压缩或变形剪应力都是软骨受力状态的部分体现。作者认为滚压载荷是软骨培养的合适力学环境, 它是当前多种力学条件的一个综合指标, 对软骨培养物可以形成纵向的动态压缩和横向的动态变形剪应力, 并且有利于细胞新陈代谢物质的运输, 因此, 滚压环境可能是人工软骨结构-功能构建的发展方向。

关键词: 关节软骨; 组织工程; 力学环境; 滚压加载; 功能化生长

中图分类号: R318.01 **文献标志码:** A

Advances of mechanical conditions in engineering cartilage tissue

ZHANG Chun-qiu¹, SUN Min-lin², LI Jiang¹, YE Jin-duo¹, LIU Hai-ying¹ (1. School of Mechanical Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300191, China; 2. PLA Armed Police Medical College Hospital)

Abstract: There are many physical factors affecting the development of cartilage tissue, the mechanical condition is the main important one that particularly act. The mechanical conditions used in engineering cartilage tissue, such as compressive and shear force, fluid flow, hydrostatic pressure and tissue deformation or with some of them combined, were reviewed. From the standpoint of bionics, the mechanical environments applied on tissue engineering should work in three aspects: providing adequately mechanical stimuli to the cells seeded in 3-D scaffold; ensuring the efficient mass-transport of the nutrients and waste products in the cells; promoting the development of functionally extracellular matrix in 3-D scaffold. The mechanical environments currently used only represented the part of mechanical conditions of in vivo articular cartilage will be reviewed. In our view that rolling depression load may achieve the fit mechanical environment for cultivation of functional cartilage constructs in vitro.

Key words: articular cartilage; tissue engineering; mechanical condition; rolling depression load; functional development

由于软骨退化或缺损引起关节疼痛、活动障碍、甚至完全丧失关节功能已成为医学治疗的一个难

收稿日期:2008-06-23; 修回日期:2008-09-13

基金项目:国家自然科学基金(No. 10872147), 天津市自然科学基金(09JCYBJC1400)

作者简介:张春秋(1967-), 研究方向:生物力学

通讯作者:张春秋, 教授, E-mail: zhang_chunqiu@126.com

题。尽管临床上采用很多新技术、新方法进行治疗,可以缓解患者疼痛,但效果普遍不令人满意。当前,软骨组织工程作为一种有望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],并正一步一步向着临床迈进。人工软骨是继组织工程皮肤成为商品后又一个最有可能成为商品的组织,这是因为软骨组织本身无血管和神经,组织构建所需细胞量少,且比较单一,新陈代谢低,适合体外组织工程的构建^[3]。

然而,采用当前的组织工程方法,人工软骨仍然没有达到与活体软骨相匹配的力学性能。这是限制软骨组织工程成为临床常规治疗方法的重要因素。软骨组织工程是将自体细胞经体外培养、扩增后,接种到一种组织相容性好、可降解吸收的生物材料上,在生物反应器内细胞-支架复合体形成一定的结构和功能后,移植、修复软骨缺损的过程。临床上需要有结构和功能合适的软骨替代物修复软骨缺损,但人工软骨的力学性能差影响关节软骨缺损的治疗效果^[4]。软骨组织没有干细胞,没有血管提供营养和关节内部粗糙的力学环境阻碍了关节软骨的自我修复^[5];原位再生的软骨移植物同样在关节内很难发育、生长、成熟为透明软骨。如果软骨移植物力学性能差,与宿主软骨接合处力学环境恶化差^[6],会导致接合处软骨退化、开裂或硬化,殃及宿主软骨;在缺乏营养、力学环境差的条件下,软骨移植物自身会退化、变性。因此人工软骨的培养需要细胞-支架复合体在体外充分生长,达到与宿主软骨相似的功能,这被称为功能化组织工程(Functional Tissue Engineering)^[6]。培养出与活体软骨结构和功能相似的类型软骨组织也是软骨组织工程不断追求的目标^[3],这样人工软骨才能成为商品。

功能化软骨组织既要在结构方面与活体软骨相匹配,又要在力学功能上相似,这就需要软骨组织功能化构建,而这面临巨大的挑战^[5]。力学条件影响器官、组织、细胞的生物学活动,同时对分子水平基因变化、细胞因子分泌等都有影响^[6,9,10]。特别是,力学传递是软骨组织的主要功能,软骨的生长、发育和维持正常生理功能都需要载荷的作用。在体研究表明,制动或运动过度都对关节软骨产生不利影响。软骨组织的结构与功能和力学环境有直接的关

系^[5-10]。生物反应器的目的是为体外组织工程构建提供合适的物理、化学条件,促使工程化组织生长、发育,获得与在体组织类似的结构与功能^[7]。生物反应器在CO₂、温度、PH的调节上已经很成熟,采用力学加载装置放入孵箱内就可形成有力学环境的生物反应器。对于软骨构建的生物反应器,力学环境是其必要条件之一,这里主要按照力学条件特征回顾生物反应器的发展。

1 力学加载的生物反应器

用于软骨培养的生物反应器种类较多。生物反应器施加的力主要有流体剪应力(图1,(a)、(b)、(c)、(d)),液体压力(e),拉伸(f),直接压缩(g),变形剪应力或其中部分组合。

1.1 流体剪应力生物反应器

软骨培养的生物反应器最早是借用其它仪器或细胞培养器。图1(a)是旋锥式反应器,本来是粘度测试仪器^[8]。旋锥转动不同使培养物上表面受到不同流动剪应力作用。图1(b)是旋转培养瓶,培养物悬挂在瓶内,培养瓶转动或底部电磁棒搅拌使培养物受到各方面的流动剪应力,部分剪应力进入培养物浅表层。此两种反应器主要对培养物外表施加流体剪应力,与静态培养相比,改善了培养物表面细胞新陈代谢物质的运输。

虽然旋锥式反应器和旋转培养瓶使用加强了培养物外部扩散过程和缓和内部扩散限制,软骨培养物内部仍缺乏信息、物质的交换,但灌流式生物反应器(图1,(c))改善了内部环境。由于允许培养液通过支架中相互联接的小孔,灌流式生物反应器不仅能对培养的细胞以剪应力刺激,还能提供较好的营养、废物传输^[11]。但应当注意到,首先软骨细胞长轴沿着流动方向排列,支架内部所有细胞也呈现相同走向,这不是我们需要的关节软骨的细胞分布;其次,软骨细胞旁分泌物质必然被流体部分带走,尽管分泌物在系统内,但也隔离了细胞间的相互影响;第三培养物不能均匀生长,流体上游细胞受的剪应力大(有可能损伤细胞)营养足,细胞生长旺盛,分泌的外基质厚;流体下游剪应力小(可能不足以影响细胞),细胞生长缓慢^[12];另外,随着培养时间的增加,细胞分泌物可能使支架内部孔隙堵塞,失去灌注作用。总之,灌流式生物反应器更适合与其他加

载方式配合,主要采用低速流动,作为培养液的更换使用。

以上三种反应器主要对培养物施加流体高剪应力,旋转壁式生物反应器(图1,(d))则提供流体低剪应力。旋转壁式生物反应器可模拟微重力环境^[12]。理想的低剪应力给高密度细胞、一些大体积组织培养等提供了有利的条件。旋转壁式生物反应器确实有较好的传质功能,40天的培养,培养物生

长厚度可达5mm,营养可深入到内部^[8],然而培养物的结构与功能大大低于活体软骨。生物反应器不仅仅要促进细胞外基质增长,还要调控形成与活体软骨相似的结构-功能特征,这样才是最终目标。有研究者指出此反应器的培养对象只能是各向同性的组织或器官^[2],那么软骨的结构-功能的培养很难实现。旋转壁式生物反应器可能更合适细胞的体外扩增。

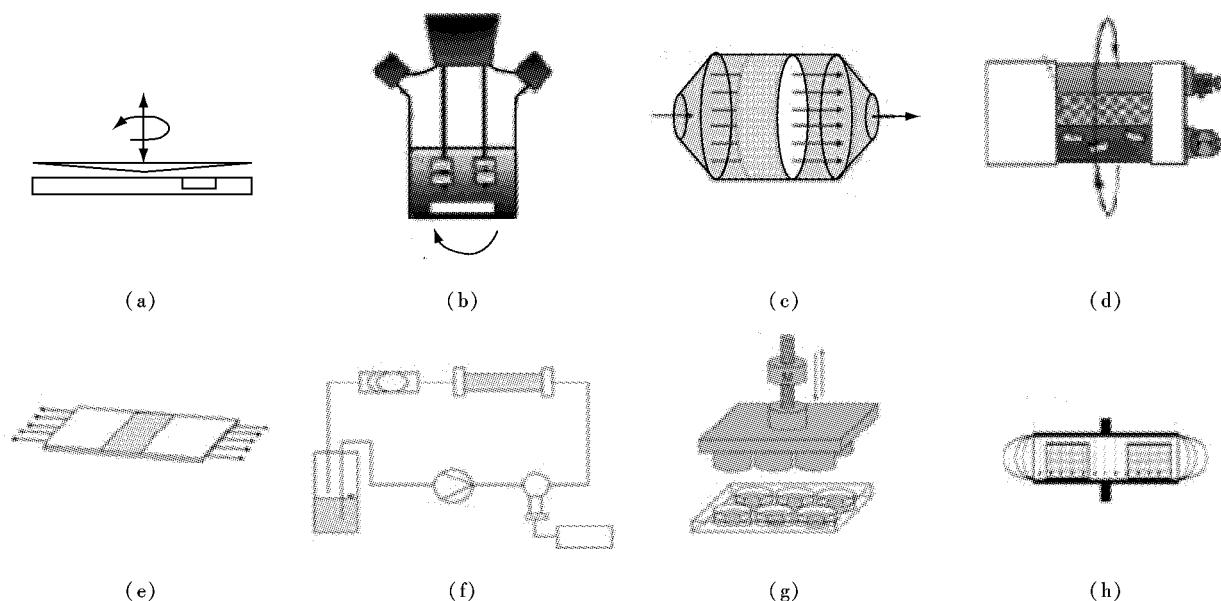


图1 软骨培养的不同生物反应器示意图^[8] (a)旋锥式反应器;(b)搅拌式培养瓶;(c)灌流式反应器;(d)旋转壁式反应器;(e)拉伸式反应器;(f)液压式反应器;(g)直接压缩式反应器;(h)电磁式反应器

Fig.1 Different bioreactor systems used in cartilage tissue engineering^[8] (a) cone viscometer; (b) spinner flask; (c) perfusion; (d) rotating vessel; (e) cell stretching; (f) hydrostatic fluid pressure; (g) direct compression; (h) electrical field

1.2 拉伸加载的生物反应器

拉伸是活体软骨受力环境中的一种,软骨培养的拉伸效应也被研究,如图1(e)。一种拉伸方式是把细胞与支架的复合体固定在弹性基底上,弹性基底被周期变形,而导致复合体被动态拉伸;另一种拉伸方式是把细胞与支架的复合体培养一段时间后,对复合体直接动态拉伸。De Witt 等人把复合体培养两星期后,施加频率0.2 Hz,应变5.5%的拉伸载荷进行培养,研究表明在两周内软骨细胞的特征DNA合成增高,蛋白聚糖增高;拉伸培养24 h后蛋白和胶原分泌就出现增加^[13]。蛋白和胶原的分泌对人工软骨的结构和功能有重要影响。

1.3 液体压力生物反应器

关节在使用过程中软骨细胞在关节内能感受到液体压力。液体压力作为软骨组织工程的一种重要的力学激励被广泛探索^[12]。生物反应器的压力有气体产生和液体产生两种。这种加载方式容易实现如图1(f)。液体压力的作用幅值和频率、时间都对软骨组织产生影响。如5 Mpa的液体压力0.5 Hz培养20 h增加了硫酸盐的合成,但在相同的载荷和频率下如果培养1.5 h,硫酸盐的合成减少^[12]。培养软骨细胞时液压加载的幅值和频率有一个正向窗口值,幅值0.1-15 MPa和频率0.05-1 Hz分别对软骨有正相关结果^[14]。生理液压的范围是5-15 MPa,

行走时关节内液压可达 5 MPa^[12]。恒定压力对软骨细胞的正、负影响都有^[15],动态压力也有促使软骨细胞负向反应^[12]。这种纯液体压力使整个培养物均匀受压,但不能使组织基质变形和剪切。这种压力不适合软骨组织工程的主要激励,但可能作为一种附加手段调节细胞的响应。

1.4 直接动态压缩载荷的生物反应器

在软骨组织构建中直接动态压缩载荷也是被广泛研究的一种力学激励^[12]。对一个健康人一天内关节软骨可能承受成千上万次直接压缩载荷的作用。没有周期载荷作用,关节软骨还将退化,直接承受载荷的功能降低^[12]。与动态液体压力作用相比,直接压缩载荷(如图 1(g))使软骨直接发生变形。直接压缩载荷指的是动态载荷,而静态压缩载荷已经证明不利于软骨组织的培养^[14]。Mauck 等^[16]探索功能化软骨组织工程的培养,把软骨细胞接种在琼脂糖凝胶进行直接动态施压,载荷大小是使复合体变形 10%,频率为 1 Hz,4 周后发现 GAG 升高 45%,胶原含量增加 37%,明显高于未加载组。Buschmann 等施加 1 Hz,应变 3% 的动态压载荷进行软骨构建,实验表明硫酸软骨素增加 15%-25%,脯氨酸增加 10%-25%,远远高于静态条件下的培养结果^[3]。在这种力学条件下研究不同培养时间培养物弹性模量的变化。尽管这种加载方式增加了培养物力学性能,但培养物与活体软骨还有很大差距^[3]。Wu and Herzog 采用有限元模拟分析直接动态施压的影响,认为这种载荷有利于人工软骨的生长^[17]。但也有人表明在动态压缩 10% 人工凝胶支架内,细胞没有增加胶原和蛋白多糖的分泌,还抑制了一氧化氮的合成,而在离体软骨中分泌物增加显著^[18]。总之,直接动态压缩载荷显示出对软骨培养的有益效应。

在软骨培养中,动态压载荷可引起垂直培养物表面的变形,是一个力学作用的综合指标,它可引起水压梯度、间隙液体流动和流动势能。这种情况下,每种激励的单独作用效果很难测量,因为几种力学激励(如液体压力、流体剪应力、流动势能)同时发生。但动态压缩在一定幅值和频率范围内促进了培养物的生物合成。这种有效的压缩载荷指标主要有:频率 0.0001-3 Hz,应变幅值 0.001-0.25^[12]。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。

1.5 变形剪应力生物反应器

变形剪应力最近也被用于软骨构建的实验研究^[19]。流体剪应力主要对复合体表面的细胞施加剪应力,而变形剪应力还对内部细胞以直接形状改变,及流体流动剪应力、压力梯度等复杂的载荷作用。Jin 等人采用频率 0.01-1.0 Hz、1-3% 的剪应变研究离体软骨的生物合成效果^[19],对比静态培养组,变形剪应力加载 24 h 引起蛋白多糖增加 25%,其胶原增加 50%。Waldman 等人采用变形剪应力长期研究,四星期的培养表明:与静态对照组比较,加载组胶原与蛋白聚糖分别增加 40% 和 35%,承载能力增加 3 倍,刚度增加 6 倍^[20]。

1.6 组合载荷和其它形式的生物反应器

一些研究者尝试组合不同的加载方式来优化培养物的结构和功能。Démarteau 等人把动态压缩与培养液搅拌结合起来进行软骨复合体的培养^[21];Frank 等人研制了即可直接动态压缩,又可变形剪切的加载装置^[22]。Prederpasgst 认为实验效果较好的组合是旋转壁生物反应器组合间歇液体压力的构建,培养结果显示培养物的蛋白聚糖的含量与活体关节软骨的相似,只是 II 型胶原较差^[3]。

当然,也有其它形式的软骨构建^[23,24],如研究离心力在体外构建组织工程软骨中的作用^[24]。电磁场效应对软骨培养的影响研究,电磁场生物反应器如图 1(h)。这些加载方法在一定条件下对细胞增殖或细胞功能发挥都有正向作用。

2 关节软骨的结构与受载形式

从软骨培养的生物反应器的发展看,软骨细胞对很多物理因素都有响应,而力学因素的影响占重要位置^[3-10]。组织工程培养中,若不加力学刺激,就得不到具有所需功能的组织^[25]。如果一种载荷能形成生物反应器构建软骨的条件,还需考虑保证培养物内部信号分子、营养和废物的有效运输;能对支架内种子细胞特定的力学刺激;促进培养物的功能化发展^[26]。要探索得到合适的力学条件,按照组织工程仿生的原理,我们还需研究关节的自然运动。

2.1 关节软骨的结构

关节软骨精细的结构按照胶原纤维分布排列方式可以分为三层,浅表层位于软骨表层,并组成滑动表面,胶原纤维与关节表面平行,软骨细胞长轴向与关节表面平行;中间层的纤维与表面呈一定角度交错分布,深层的胶原纤维直径更粗,与关节表面垂直排列;深层下面是钙化层。关节软骨的结构是与其功能相适应的^[5,9,10]。人工软骨的构建就是要使培养物尽量生长就有这种不同区域型的结构。

2.2 关节软骨的受载形式

关节有支撑、运动的功能,股骨远端与胫骨近端之间有滑液,营养软骨和润滑软骨表面。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^[6,27],可形象的描述为一种圆柱的直接接触压缩,另一种似车轮滑动,产生表面剪应力。在行走时膝关节中滚动和滑动同时存在,滚动约占60%,滑动约占40%;滚动速度为0-15 cm/s,滑动速度为0-35 cm/s^[6]。Koo S and Andriacchi 2007年研究膝关节载荷与接触软骨厚度之间关系时是采用滚动模型^[28],不同软骨面处辘子模型的半径不同。另外,美国Brown TD课题组研究关节不稳对关节软骨影响时采用辘子直接压缩的有限元模型^[29]。

3 软骨构建力学环境的发展方向

上述分析与前诉各种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,如直接压缩载荷。其它电磁生物反应器对软骨细胞的影响是模拟活体软骨内离子流动对细胞影响的结果。我们认为:由于软骨细胞受力的多样性,精细研究每种力的作用效果是对软骨构建的一种徒劳方法,因为软骨具有独特而复杂的结构与力学环境,水压力,流体剪应力,拉伸等都与软骨孔隙、渗透压、结构组成有关,有较大变化范围,只是软骨微观受力状态的部分体现。我们应确定一个宏观、综合载荷指标研究软骨构建。直接压缩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

荷就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^[30]。滚压加载模型与体内力学环境更易相近。

滚压载荷(包括滑动)应用于软骨的培养中,辘子滚压一方面对软骨细胞-支架复合体直接动态压缩,培养物产生压缩变形(生理状态下软骨平均压缩变形达13%^[4]),在辘子与培养物接触区,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,软骨细胞受到流动剪应力的作用,促进内部传质过程,同时接触区软骨肿胀压力增高与其接触应力、胶原张力达到平衡;另一方面培养物在辘子滚压过程中培养物表面受到剪切应力,增加相对滑动实际就增加了表面的剪应力;同时辘子滚压带动培养液的流动,增加培养物表面流体剪应力、传质过程。辘子在培养物表面来回滚压就形成了动态压缩和表面剪切,这正对应了软骨形态中胶原纤维在软骨结构中的走向。剪切载荷有利于软骨浅表层平行表明方向胶原的形成,而辘子的直接动态压缩有利于深层垂直表面胶原的生成;剪切载荷与直接动态压缩共同作用就形成了软骨中间层的结构-功能。

滚压载荷对培养物均匀加载,还形成均匀传质过程。当辘子滚过培养物时,培养物每一部分都受到相同的滚压载荷(主要包括压缩和剪切力);多孔隙的培养物内部流体流动相对均匀,有利于内部细胞新陈代谢物质的均匀输送。不像直接压滑产生液体压力不均,传质过程有死角。滚压载荷可保证培养物内部信号分子、营养和废物的有效运输;能对支架内软骨细胞特定的力学刺激;促进培养物的功能化发展,达到软骨结构与功能的适应性生长。

参考文献:

- [1] 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] 杨志明,组织工程[M].北京:化学工业出版社,2002:1-5,337-345.
- [3] Patrick J. Prendergast, Peter E. McHugh. Topics in biomechanical engineering. Proceedings of the 1st symposium on Biomechanical Engineering by TCBE & NCBES [M]. Ireland, 2004: 94-146.
- [4] Hung CT, Mauck RL, Wang CC, et al. A paradigm for functional tissue engineering of articular cartilage via applied physiologic deformational loading [J]. Ann Biomed

- Eng, 2004, 32: 35-49.
- [5] 李春江,卫小春.力学因素在功能性软骨组织工程学中的作用 [J].生物骨科材料与临床研究,2007,4(3): 27-30.
- [6] Guilak F, Butler DL, Goldstein SA, et al. Functional Tissue Engineering [M]. Berlin: Springer-Verlag, 2004: 332-400.
- [7] 樊瑜波.组织工程生物反应器的生物力学 [J].医用生物力学, 2005,20(4):203.
- [8] Schulz RM, Bader A. Cartilage tissue engineering and bioreactor systems for the cultivation and stimulation of chondrocytes [J]. Eur Biophys J. 2007 Apr, 36(4-5): 539-68.
- [9] 戴尅戎.力学生物学在骨与软骨研究中的应用 [J].中华骨科杂志,2006,6:429-431.
- [10] 王远亮,蔡绍哲,生物力学与骨组织工程 [J].力学进展, 1999,29(2):232-248.
- [11] Bancroft GN, Sikavitsas VI, Milos AG. Design of a flow perfusion bioreactor system for bone tissue-engineering applications [J]. Tissue Engineering. 2003; 9(3): 549.
- [12] Darling EM, Athanasiou KA. Review - Articular Cartilage Bioreactors and Bioprocesses [J]. Tissue Eng,2003, 9: 9-26.
- [13] De Witt MT, Handley CH, Oakes BW, et al. In vitro response of chondrocytes to mechanical loading. The effect of short term mechanical tension [J]. Connective Tissue Research,1984, 12: 97-109.
- [14] Angele P, Yoo JU, Smith C, et al. Cyclic hydrostatic pressure enhances the chondrogenic phenotype of human mesenchymal progenitor cells differentiated in vitro [J]. J Orthop Res, 2003, 21: 451-457.
- [15] Scherer K, Schünke M, Sellckau R, et al. The influence of oxygen and hydrostatic pressure on articular chondrocytes and adherent bone marrow cells in vitro [J]. Biorheology, 2004, 41(3-4): 323-333.
- [16] Mauck RL, Soltz MA, Wang CC, et al. Functional tissue engineering of articular cartilage through dynamic loading of chondrocyte-seeded agarose gels [J]. J Biomech Eng, 2000, 122(3): 252-260.
- [17] Wu JZ, Herzog W. Analysis of the mechanical behavior of chondrocytes in unconfined compression tests for cyclic loading [J]. J Biomech,2006, 39(4): 603-16.
- [18] Lee DA, Bader DL. Compressive strains at physiological frequencies influence the metabolism of chondrocytes seeded in agarose [J]. J Orthop Res,1997, 15:181-188.
- [19] 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 [J]. Arch Biochem Biophys, 2003, 414:223-231.
- [20] Waldman SD, Spiteri CG, Grynblas MD, et al. Long-term intermittent shear deformation improves the quality of cartilaginous tissue formed in vitro [J]. J Orthop Res,2003, 21: 590-596.
- [21] Démarreau O, Wendt D, Braccini A, et al. Dynamic compression of cartilage constructs engineered from expanded human articular chondrocytes [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications,2003, 310: 580-588.
- [22] Frank EH, Jin M, Loening AM, et al. A versatile shear and compression apparatus for mechanical stimulation of tissue culture explants [J]. J Biomech,2000, 33: 1523-1527.
- [23] 宋锦璘,罗颂椒,樊瑜波,等.静张应力对大鼠踝突软骨细胞增殖效应调节研究 [J].华西口腔医学杂志,2003,21(1): 57-60.
- [24] 孔清泉,杨志明,项舟,等.离心力在体外构建组织工程软骨中的作用 [J].中华实验外科杂志,2005,22(3):281-283.
- [25] 陶祖莱.组织工程中的生物力学问题 [M].东方科技论坛第 57 期学术会议, 2006: 1-57.
- [26] Zhang Chunqiu, Zhang Xizheng, et al. Direct compression as an appropriately mechanical environment in bone tissue reconstruction in vitro [J]. Medical Hypotheses. 2006, 67:1414-1418.
- [27] 陈启明,梁国穗,秦岭,等.骨科基础科学-骨关节肌肉系统生物学和生物力学 [M].人民卫生出版社,2003,420-480.
- [28] Koo S, Andriacchi TP. A comparison of the influence of global functional loads vs. local contact anatomy on articular cartilage thickness at the knee [J]. Journal of Biomechanics, 2007, 40: 2961-2966.
- [29] Goreham-Voss CM, McKinley TO, Brown TD. A finite element exploration of cartilage stress near an articular incongruity during unstable motion [J]. Journal of Biomechanics,2007, 40: 3438-3447.
- [30] 张春秋,张西正,叶金铎,等.滚动载荷用于培养物培养的方法及生物反应器:中国,200710057331.9 [P].