

文章编号:1004-7220(2015)06-0515-06

载荷强度对受载胫骨中骨陷窝-骨小管系统内溶质运输速率影响

王玉琨, 樊黎霞

(南京理工大学 机械工程学院, 南京 210094)

摘要: **目的** 利用有限元法研究载荷强度对受载胫骨中骨陷窝-骨小管系统(lacunar-canalicular system, LCS)内溶质运输速率的影响。**方法** 基于成年鼠胫骨的 micro-CT 扫描图像,利用 Mimics、Hypermesh、FEBio 等软件建立其胫骨有限元模型,且视为均质的两相-溶质材料。通过设置 3 组不同扩散率(3、15、30 $\mu\text{m}^2/\text{s}$)的溶质和载荷强度(0.2、2.0、5.0 N),得到运输速率和溶质扩散率以及载荷强度之间的关系。对比光脱色荧光恢复(fluorescence recovery after photobleaching, FRAP)实验数据与有限元法得到的结果,分析载荷刺激对运输增强率的影响。**结果** 运输速率均随着扩散率和载荷强度的增大而增大。通过与 FRAP 实验的数据进行比对发现,有限元法得到的结果基本符合溶质运移规律。**结论** 研究结果可为研究皮质骨深层区域的力响应以及流动性提供一定基础,也为进一步揭示骨再生机制提供借鉴。

关键词: 骨陷窝-骨小管系统; 溶质运输; 载荷强度; 骨再生

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.3871/j.1004-7220.2015.06.515

The influence from load strength on solute transport rate of lacunar-canalicular system in loaded tibia

WANG Yu-kun, FAN Li-xia (*School of Mechanical Engineering, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210094, China*)

Abstract: **Objective** To study the influence from load strength on solute transport rate in lacunar-canalicular system (LCS) of loaded tibia using finite element method. **Methods** Based on micro-CT scan images of adult mice tibia, the finite element model of the tibia, which was regarded as being homogeneous biphasic-solute, was established by software of Mimics, Hypermesh and FEBio. The relationship between transport rate and solute diffusivity/load strength was obtained by setting 3 groups of different solute diffusivity (3, 15, 30 $\mu\text{m}^2/\text{s}$) and load strength (0.2, 2.0, 5.0 N), respectively. By comparing the results from both fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) experiment and finite element method, the effect of load stimulation on transport enhancement was analyzed. **Results** The transport rate increased with the increase of diffusion rate and load strength. The results from finite element method were basically consistent with the solute transport rules by comparing data from FRAP experiment. **Conclusions** The research findings can provide some basis for load response and liquidity in deep area of cortical bone, and for further revealing the mechanism of bone regeneration.

Key words: Lacunar-canalicular system (LCS); Solute transport; Load strength; Bone regeneration

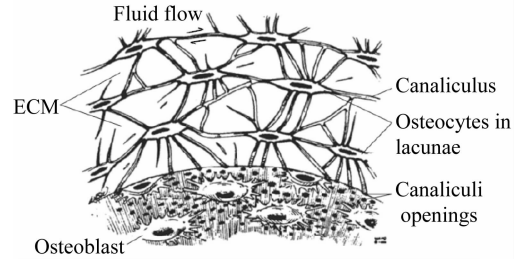
骨细胞在成年骨组织中约占细胞总数的90%，对于骨内新陈代谢和信号传输具有不可替代的作用^[1]。如何通过不同力学刺激形式实现骨的适应性改变，指导骨与关节临床治疗和组织再生是生物力学的重要发展方向^[2]。骨细胞主要包埋在矿化基质内，不能直接接受血管供应的物质。基于矿化基质的分子不可渗透性，它们只能通过组织内物质运输来获得养料、排泄废物，并与相邻细胞进行化学信号的传递^[3]。这种称之为骨陷窝-骨小管系统(lacunar-canalicular system, LCS)的运输结构大量存在于成骨内，是成骨细胞执行靶向追踪和其他生理功能的重要基础^[4]，目前光脱色荧光技术是研究骨内流场的主要方法^[5]。光脱色过程中，荧光示踪分子事先被诱导入器官或组织细胞内，然后选择靶点区域或者细胞进行不可逆转的光漂白。漂白后，漂白点周围细胞或组织内的荧光分子将伴随着流体逐渐移入，从而最终达到平衡^[6]。对此过程中摄取靶点区域的图片进行处理，通过将二室模型内荧光恢复进行拟合便可得到相应的分子流动趋势^[7]。但是上述光脱色荧光恢复(fluorescence recovery after photobleaching, FRAP)的实验方法由于技术局限性，只能应用于骨皮质层下30~50 μm区域^[8]。本研究通过建立合理的胫骨三维模型^[9]，并赋予适当的材料属性和边界条件，利用有限元方法求解得到受载骨内流体/溶质运移速率以及相应的运输增强率。

LCS大量存在于密骨质中，其微观系统比较复杂，故很难精确地用数学模型直接表示。为了便于研究骨内复杂的溶质运移状态[见图1(a)]，可以将LCS简化为一个二仓模型。源仓和终仓分别为LCS中的两个骨陷窝，二仓之间通过长为 d 的骨小管相连， x 为骨小管中任一位置距离源仓的长度。 C_0 、 C_s 分别为源仓和终仓的初始溶质浓度， $C(x, t')$ 则为骨小管中任一时刻和位置的溶质浓度[见图1(b)]。当源仓和终仓出现梯度浓度，由于扩散和渗流作用，源仓内的溶质将会向终仓运移，最终达到相对平衡的状态。

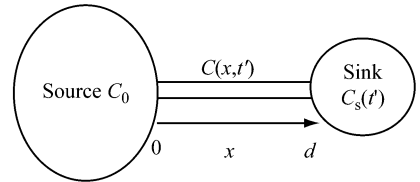
根据骨生物力学，对于二仓模型可以得到如下修正的扩散方程：

$$C(x, t) = C_0 - (C_0 - C_b)x/d + \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2(-1)^n (C_0 - C_b)}{n\pi} \sin \frac{n\pi x}{d} e^{-\frac{n^2\pi^2 D t}{d^2}} \quad (1)$$

式中： C_0 、 C_b 分别为荧光前和荧光后的浓度； D 为溶质在LCS中的扩散系数。通过给定 C_0 、 C_b 和 D ，可以得到二仓模型中任一时刻、任一位置的溶质浓度 C 。但是LCS过于复杂，其中还包括流体渗流、对流，目前数学模型仅讨论了三仓下的数值计算，故有必要通过有限元法研究骨内LCS的溶质运输状态。



(a) LCS 微观特征^[10]



(b) LCS 二仓模型^[11]

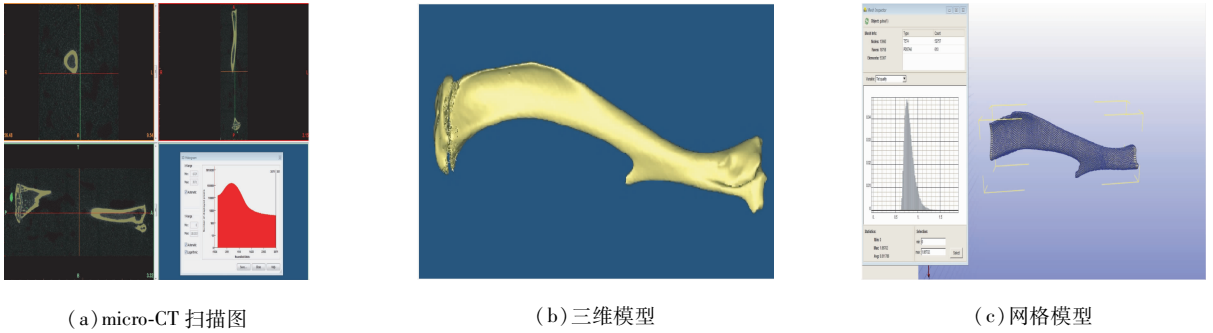
图1 LCS 及其数学模型

Fig. 1 The lacunar-canalicular system (LCS) and its mathematical model (a) The microscopic feature of LCS, (b) A two-compartment LCS transport model

1 建立有限元模型

1.1 胫骨的三维建模和有限元前处理

成年C57BL/6J (B6) 雄性小鼠，鼠龄20~22周，取后肢长约20 mm胫骨段，先行排除损伤、退变病理变化。去除骨表面软组织后，对胫骨表面使用高浓度酒精(70%~80%)进行处理。采用Brilliance 64排螺旋CT机(Philips公司，荷兰)沿胫骨长轴方向进行CT扫描，扫描层间距为20 μm，共连续获得998张(512×512)像素的CT图片(0~20 mm)，其中投照电压140 kV、曝光量120 mA·s。将获得的CT片以通用的DICOM 3.0标准格式存储，并导入Mimics 10.1中，通过合理设置阈值区间以精确提取骨组织[见图2(a)]。通过观察3个关联的视图并适当的调整阈值下限，尽量保证边界分割的清晰光滑，将阈值区间设定为2 042~3 071。再逐层对图像轮廓边缘的突角、凹边进行编辑，最终得到胫骨的



(a) micro-CT 扫描图 (b) 三维模型 (c) 网格模型

图2 成年鼠胫骨模型建立

Fig.2 Establishing the tibia model from adult mice (a) Micro-CT scan images, (b) 3D model, (c) Grid model

3D 模型[见图2(b)]。为了方便施加载荷和约束并防止计算不收敛,将模型网格化后去除关节两端部分[见图2(c)]。

1.2 密质骨材料的定义

研究受载骨内流场时,选取合适的材料类型最为关键。根据生物有限元(FEBio)用户手册,最终将密质骨的材料类型定义为两相-溶质材料^[12]。两相-溶质材料的控制方程包括2个质量守恒方程以及1个动量守恒方程。

溶剂的质量守恒方程:

$$\operatorname{div}(\mathbf{v}^s + \mathbf{w}) = 0 \quad (2)$$

溶质的质量守恒方程:

$$\partial(\phi^w \hat{k} \hat{c}) + \operatorname{div}(\mathbf{j} + \phi^w \hat{k} \hat{c} \mathbf{v}^s) = 0 \quad (3)$$

动量守恒方程:

$$\operatorname{grad}(\hat{p} + R\theta\phi \hat{k} \hat{c}) + \operatorname{div}\boldsymbol{\sigma}^e = 0 \quad (4)$$

式中: \mathbf{v}^s 为固体模型的速度矢量; \mathbf{w} 为溶剂相对于固体的体积通量; ϕ^w 为溶剂在混合物中的体积分数; \hat{k} 为有效溶解度; \hat{c} 为有效溶质浓度; \mathbf{j} 为溶质相对于固体的摩尔通量; \hat{p} 为有效流体压力; R 为通用气体常数; θ 为绝对温度, ϕ 为渗透系数(表示固相的渗透性强弱大小); $\boldsymbol{\sigma}^e$ 为固体模型发生应变而产生的应力张量。

将固相定义为各向同性的弹性材料,弹性模量为20 GPa、泊松比为0.33、孔隙度为10%。其中固相材料中充满了渗透率相同且各向同性的液相材料,组织渗透率为 $2.85 \times 10^{-28}/\text{cm}^2$ 、渗透系数为12 nm/s、黏度为1 mPa·s、溶质溶解度为0.01 g。

1.3 边界条件

对不同情况设定特定的边界条件,模拟不同状态下骨内的物质输运。间歇式末端循环挤压加载被

用于胫骨的加载过程,每次循环将执行1.5个正弦波加载。整个单加载的循环时长为6 s(2 s加载时长,4 s休止时长),加载强度分别为2.8、4.8 N(实际峰值分别为3.0、5.0 N,以抵消0.2 N的自重载荷静态对比的相对值)。

由于只针对骨皮质层下30~50 μm进行研究,并且为了方便与FRAP实验结论进行对照,故不考虑皮质骨层与外部肌肉等组织的物质交换。胫骨模型外层溶质浓度设置为 $C=1$,FRAP点浓度设置为 $C=0.6$,初始流速 $v=2.5 \times 10^{-3}$ 。胫骨模型内层设置为自由流动,模拟密质骨与松质骨以及骨髓的物质交换,以响应胫骨的真实状态(见图3)。

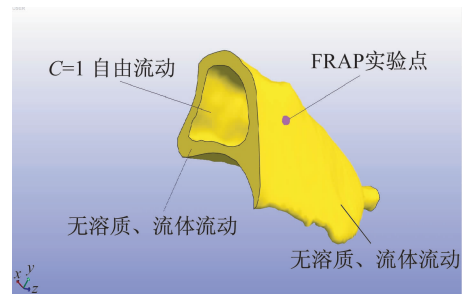


图3 胫骨的边界条件

Fig.3 Boundary condition of the tibia

2 结果

为了方便与FRAP实验点数据进行对照,在FRAP靶点位置设置同样的浓度差。设定靶点处的溶质初始浓度值为0.2,剩余部分溶质初始浓度为1。溶质浓度差产生的梯度效应将会导致扩散效应,而流体压力产生的梯度效应将会导致溶剂的对流。

2.1 溶质扩散率对运输速率的影响

针对不同溶质扩散率 D 对于溶质运输的影响, 设置3种不同扩散率 (D_1, D_2, D_3) 的溶质进行比对。 D_1, D_2, D_3 分别为 $3, 15, 30 \mu\text{m}^2/\text{s}$ 。溶质均为不带电中性粒子。在 3 s 的时间内, 随着溶质的扩散率增大, FRAP 实验对照点处的溶质浓度和浓度变化速

率有明显增大趋势。为了更直观地反映运输速率 K_{diff} , 将趋于平稳时刻的 $\ln \frac{C - C_0}{C_b - C_0}$ 函数值与时间 t 的比值视作 K_{diff} 。当时间 t 趋于 3 s 时, 浓度变化率趋于平稳, K_{diff} 与 D 呈正相关(见图4)。

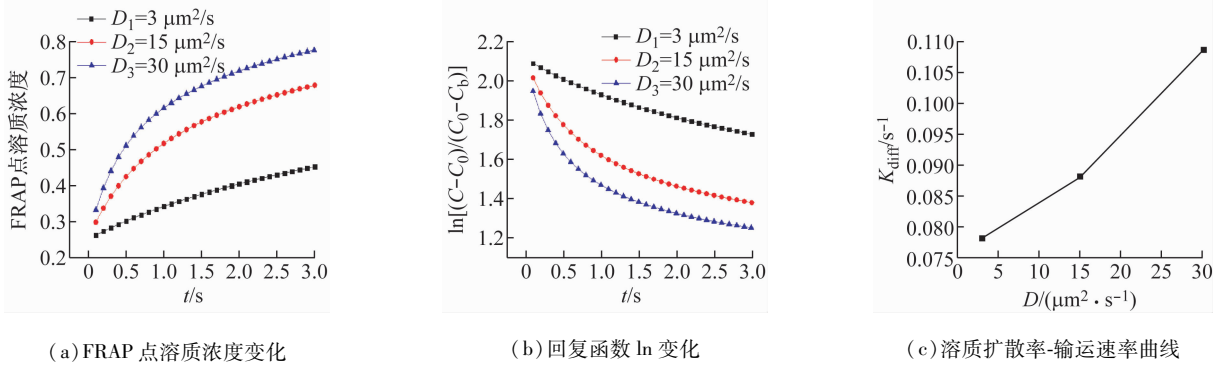


图4 不同溶质扩散率对溶质运输的影响

Fig.4 Effects of different solute diffusion rates on solute transport (a) Changes of solute concentration at FRAP point, (b) Changes of the recovery function \ln , (c) Solute diffusivity-transport rate curve

2.2 载荷强度对骨内运输速率的影响

在正常成年骨中, 骨细胞被认为是外载荷环境的传感器, 也是成骨和破骨细胞的主要调控者^[13]。由于矿化基质的不可渗透性, LCS 在载荷刺激下增强了其间质的流动性^[14], 同时也增加了骨细胞获得养分、排出废物的能力。因此, 机械载荷刺激对于骨细胞的存活和功能性有着至关重要的影响^[15]。

(0.2 N 自重载荷) 以及 $2.0, 5.0 \text{ N}$, 加载方式为一端约束一端加载, 加载时间 $t = 120 \text{ s}$ 。先进行 0.2 N 自重加载 4 s , 再进行均匀加载至实验载荷, 4 s 为一个载荷周期。荧光点的溶质浓度随着载荷强度增大而增大[见图5(a)]。为了更直观地反映运输速率 K_{load} , 将趋于平稳时刻的 $\ln \frac{C - C_0}{C_b - C_0}$ 与 t 的比值定义为 K_{load} 。 K_{load} 随 F 增大而增大(见图6)。

取 $D_2 = 15 \mu\text{m}^2/\text{s}$, 加载大小 F 分别为无载荷

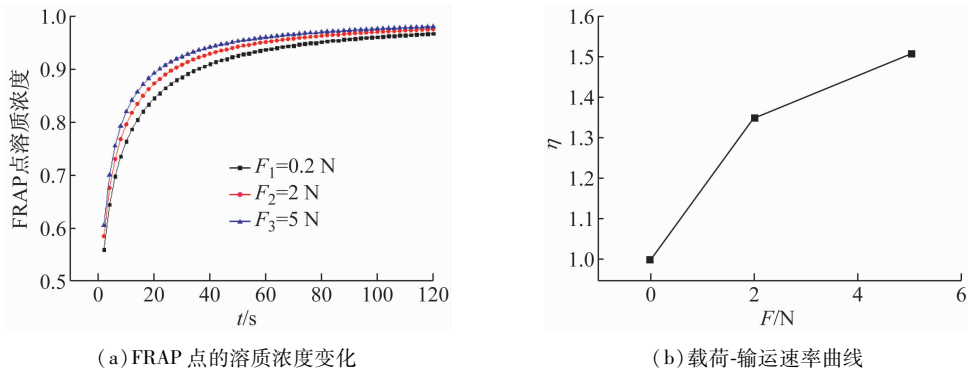


图5 不同载荷强度对溶质运输的影响

Fig.5 Effects of different load strength on solute transport (a) Changes of solute concentration at FRAP point, (b) Load-transport rate curve

2.3 有限元仿真与 FRAP 实验数据比对

定义运输增强率 $\eta = K_{\text{load}}/K_{\text{diff}}$, 当 $F = 0.2, 2.0, 5.0$ N 时, η 分别为 1.00、1.35、1.51。可以看出 $F = 0.2 \sim 10$ N, η 随着 F 增大而增大, 两者之间可以用线性关系描述:

$$\eta = \frac{K_{\text{load}}}{K_{\text{diff}}} = 1 + 0.085F$$

在 FRAP 实验中, 运输速率 $\eta' = 1 \sim 1.51$, η' 随着 F 的变化关系为:

$$\eta' = \frac{K'_{\text{load}}}{K'_{\text{diff}}} = 1 + 0.112F$$

对比 FRAP 实验数据和有限元法得到的曲线, 可以看出差异处于合理接受范围(见图 6)。差异产生的原因可能是由于模型自身缺陷和边界条件的限制, 并不能完全真实反映骨内 LCS 系统溶质运移现象。

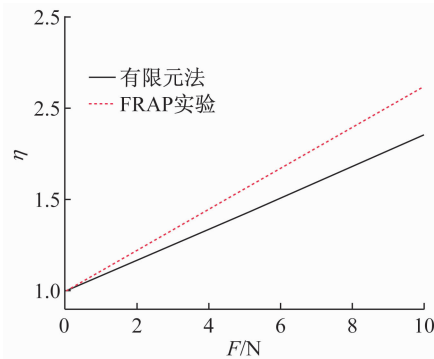


图 6 两种方法下的运输增强强度曲线

Fig. 6 Transport enhancement curves by two methods

3 讨论

目前, 骨生物力学有限元仿真主要是将皮质骨视为单相材料属性, 分析其应力、应变分布^[16]。而实际上皮质骨中存在着大量 LCS, 在矿化基质外流动着间质液体, 并且间质液体中存在大量的溶质, 这些中性溶质对骨细胞的存活和功能性以及骨再生起了决定作用^[17]。针对骨内流体流动特性的研究集中在理论计算法和 FRAP 实验法, 这两种方法都存在不足之处。理论计算法耗时耗力, 并且很难精确地描述骨组织的本构方程; 由于技术限制, FRAP 实验研究流体流动局限于骨膜下 30 ~ 50 μm 区域, 对内部流场定量测算尚无涉足。

本研究利用生物有限元法, 针对溶质运输强度这一特性, 验证了 FRAP 实验, 并扩大了对于皮质骨内溶质运移的理解。在无载荷情况下, 不同扩散率的中性溶质分子对运输速率有着显著影响。同时在相同扩散率下, 不同载荷强度与溶质运输速率呈正相关。通过比较有限元法与 FRAP 实验点得到的运输强度, 验证了有限元法应用于骨内溶质运移研究的可行性, 为下一步研究骨组织内流场更深区域、更大范围提供方法借鉴。

该方法也存在一定局限性。首先是有限元模型存在不足, 边界条件的设定不能完全响应骨组织的实际情况, 骨膜与肌肉以及关节之间的边界条件并未体现在模型上^[18]。材料属性设定方面也不全面, 仅考虑中性溶质分子, 并未考虑多种溶质、离子间的相互化学反应^[19]。尽管这些不足会对计算结果产生一些误差, 但是有限元分析的整个过程还是能较好地反映实际, 为后续骨内溶质、流体流动性研究提供指导。

参考文献:

- [1] Jilka RL, Weinstein RS, Parfitt AM, et al. Quantifying osteoblast and osteocyte apoptosis: Challenges and rewards [J]. J Bone Miner Res, 2007, 22(10): 1493-1496.
- [2] 秦岭. 力学刺激促进成骨和骨再生[J]. 医用生物力学, 2012, 27(2): 129-133.
Qin L. Mechanical stimulation enhances osteogenesis and bone generation [J]. J Med Biomech, 2012, 27(2): 129-133.
- [3] Piekarski K, Munro M. Transport mechanism operating between blood supply and osteocytes in long bones [J]. Nature, 1977, 269(5623): 80-86.
- [4] Wang L, Wang Y, Han Y, et al. In situ measurement of solute transport in the bonelacunar-canalicular system [J]. Proc Natl Acad, 2005, 102(33): 11911-11916.
- [5] 王彬. 骨关节系统内溶质运输和关节软骨内钙响应的原位示踪研究[D]. 重庆: 重庆大学博士学位论文, 2013.
- [6] Rayan G, Guet JE, Taulier N, et al. Recent applications of fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) to membrane bio-macromolecules [J]. Sensors, 2010, 10(6): 5927-5948.
- [7] Wang B, Wang LY, Han YF, et al. Modeling fluorescence recovery after photobleaching in loaded bone: Potential applications in measuring fluid and solute transport in the osteocytic lacunar-canalicular system [J]. Ann Biomed

- Eng, 2008, 36 (12): 1961-1977.
- [8] Li W. Solute diffusion in the bone lacunar-canalicular system: Its dependency on molecular weight, shape, and charge [D]. Delaware: University of Delaware, 2008.
- [9] 樊黎霞, 丁光兴, 费王华. 基于 CT 图像的长管骨有限元材料属性研究及实验验证[J]. 医用生物力学, 2012, 27(1): 102-106.
Fan LX, Ding GX, Fei WH. Study and verification test on finite element materials properties of the long bone based on CT images [J]. J Med Biomech, 2012, 27(1): 102-106.
- [10] Price C, Zhou XZ, Li W. Real-time measurement of solute transport within the lacunar-canalicular system of mechanically loaded bone: Direct evidence for load-induced fluid flow [J]. J Bone Miner Res, 2011, 26(2): 277-285.
- [11] 刚广果. 骨陷窝—骨小管系统内液体的流动[J]. 生物物理学报, 2001, 2(6): 389-391.
- [12] Maas S, Ellis B, Gerard A. FEBio: Finite elements for biomechanics [J]. Ann Biome Eng, 2012, 134(1): 110-112.
- [13] Cowin S. Bone poroelasticity [J]. J Biomech, 1999, 32(44): 217-238.
- [14] Yu I, Nicol D. Peculiarities of the relief of the mineralized surface of lacunae and canaliculi in lamellar bone [J]. Bull Exp Bio Med, 1993, 115(1): 65-69.
- [15] Marvin J. Behavior of fluid in stressed bone and cellular stimulation [J]. Cal Tiss Int, 1984, 36(1): 72-76.
- [16] 程方荣, 宋颖涛. 生物力学研究进展[J]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 2010, 38(4): 164-166.
- [17] 孙晓江, 戴魁戎, 汤亭亭. 流体剪切应力对骨细胞分子活动的影响[J]. 医用生物力学, 2007, 22(1): 109-114.
Sun XJ, Dai KR, Tang TT. Flow shear stress induced molecular events of bone cells [J]. J Med Biomech, 2007, 22(1): 109-114.
- [18] Smith EL, Colombo JS, Sloan AJ. TGF-beta1 exposure from bone surfaces by chemical treatment modalities [J]. Eur Cell Mater, 2011, 21(3): 193-196
- [19] Zhang JC, Liu DD, Sun J. Effect of Dy 3 + on osteogenic and adipogenic differentiation of mouse primary bone marrow stromal cells and adipocytic trans-differentiation of mouse primary osteoblasts [J]. Chin Sci Bull, 2009, 54(1): 66-71.

《医用生物力学》杂志征稿、征订启事

《医用生物力学》杂志由中华人民共和国教育部主管、上海交通大学主办,是国内唯一一本公开发行,以积极反映生物力学基础研究与应用研究成果,推动国内外学术交流,促进医、生、理、工各学科相互了解和合作为目的的学术性刊物。报道内容主要包括生物力学领域中有关力学生物学、器官-组织生物力学、细胞-亚细胞-分子生物力学、感觉系统生物力学、骨骼肌肉系统生物力学、航空航天生物力学、颌面口腔生物力学、呼吸系统生物力学、康复工程生物力学、心血管系统生物力学、血液流变学、医用材料生物力学、运动医学生物力学等的研究论文。本刊为中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊);美国《化学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、荷兰《文摘与引文数据库》来源期刊;2015年入选北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2014年版)。

本刊为双月刊,每双月25日出版,16开本,96页,国内统一连续出版物号CN 31-1624/R,国际标准连续出版物号ISSN 1004-7220;定价每期15.00元,全年90.00元,由邮局向全国征订发行,邮发代号4-633。读者可在附近邮局订阅或通过邮政“11185”客户服务中心电话订阅。欢迎广大读者、作者订阅本刊,踊跃来稿。

地址:上海市制造局路639号200011

电话:(021)53315397;传真:(021)63137020;电子信箱:shengwulixue@163.com

网址:www.medbiomechanics.com, www.mechanobiology.cn