

文章编号:1004-7220(2019)03-0307-08

# 细胞在缓变刚度基质上趋硬性迁移的数值试验

宁乐, 张涵, 朱卫平

(上海大学上海市应用数学和力学研究所, 上海 200072)

**摘要:**目的 以成纤维细胞为模式细胞,光聚法制备的具有缓变刚度的水凝胶为基质,分析基质的工艺和性能参数对细胞迁移进程的影响,为有关人工基质的设计和制作提供理论指导。**方法** 构建试验系统的数学模型,编制相应的计算机求解程序,包括细胞模型的黏弹性动力学有限元、细胞与基质间黏着斑的形成和解离动力学方程、动边界和时间多尺度问题的求解策略。**结果** 给出基于实验数据的基质工艺参数与基质性能参数之间的关系式;当基质刚度一定时,速度和牵引力随基质刚度的增加而增大,并且伴有快速波动现象,随观察时间的延长,细胞运动状态将逐渐趋于稳定;适量增加基质刚度梯度将明显促进细胞迁移,而且细胞在较大刚度梯度的基质上能够保持一定的极限速度;光掩模不透明度梯度越小,基质刚度梯度越大,细胞到达指定位置耗时越少。试验结果与文献报道的有关实验结果相符。**结论** 试验结果为测试光聚法制备的缓变刚度水凝胶基质的工艺参数和性能参数对细胞迁移进程的影响提供了一个有效的数字仿真平台。

**关键词:**组织工程;人工基质;刚度梯度;细胞趋硬性;动态有限元

**中图分类号:** R 318.01 **文献标志码:** A

**DOI:** 10.16156/j.1004-7220.2019.03.014

## Numerical Test for Cell Durotaxis Migration on Substrate with Moderate Gradient Stiffness

NING Le, ZHANG Han, ZHU Weiping

(Shanghai Institute of Applied Mathematics and Mechanics, Shanghai University, Shanghai 200072, China)

**Abstract:** **Objective** Based on fibroblast cell model and photopolymerized hydrogel substrate with moderate gradient stiffness, to analyze the effect of process and performance parameters on cell migration and provide theoretical guidance for artificial scaffold design and fabrication. **Methods** A mathematical model of the test system was built and the corresponding numerical program was compiled, including viscoelastic dynamic finite element of the cell model, reaction kinetic equation of focal adhesions, and the strategy to deal with dynamic boundary and multi-scale time. **Results** The relationship between process parameters and performance parameters was formulated based on experimental data; cell migration speed and traction increased with the substrate stiffness increasing and were accompanied by rapid fluctuation when stiffness gradient was constant, then cell movement gradually stabilized with the extension of observation time. Increasing stiffness gradient moderately obviously promoted cell migration, and cells could maintain a limited speed on substrate with a large stiffness gradient. Smaller photo-mask opacity gradient resulted in larger substrate stiffness gradient and less time spent for cell to reach the target. These results agreed with the experimental results reported in the literature. **Conclusions** The experimental result provided an effective digital simulation platform to test the influence of process and performance parameter of photopolymerized hydrogel substrate with moderate gradient stiffness on cell migration.

**Key words:** tissue engineering; artificial substrate; stiffness gradient; cell durotaxis; dynamic finite element

收稿日期:2018-04-10; 修回日期:2018-05-17

基金项目:国家自然科学基金项目(31370940)

通信作者:朱卫平,研究员,博士研究生导师,E-mail:wpzhu@shu.edu.cn

细胞迁移在组织工程中具有重要作用<sup>[1]</sup>。目前组织工程已在血管再生、神经修复以及人工器官重构等领域取得一定进展<sup>[2]</sup>。为形成新的组织和器官,必须研制满足细胞迁移、分化、增殖需求的细胞支架<sup>[3-4]</sup>。细胞外基质(extracellular cellular matrix, ECM)的刚度或模量属于力学信号,能影响细胞的行为。细胞由于ECM刚度梯度引起的运动称为趋硬性运动<sup>[5]</sup>。肿瘤、纤维化等疾病可导致相关组织的刚度从病源中心向外呈由硬到软的变化,即存在刚度梯度<sup>[6-7]</sup>,其最大梯度可达 $10 \text{ Pa}/\mu\text{m}$ <sup>[8]</sup>;而正常生理状态下,例如,正常的心肌层也存在 $(0.6 \pm 0.9) \text{ Pa}/\mu\text{m}$ 的刚度梯度<sup>[9]</sup>,属于缓变刚度基质。在人工器官重建中,若所用支架与原生环境差异过大,则可能形成皱缩或异常形态的畸形器官<sup>[10]</sup>。因此,人工支架的设计与制造需要重点考虑生理状态下的刚度梯度以及细胞在缓变刚度基质上的趋硬性迁移运动。

成纤维细胞以其清晰、扁平、梭状的形态特征和向损伤组织自发迁移的生理特性,常作为研究细胞定向运动较为理想的模式细胞之一。基质的弹性模量不仅能够影响细胞运动,其弹性模量的改变对细胞增殖和定向分化等行为均有重要影响<sup>[8,11-12]</sup>。目前,虽然已经有一些理论模型,例如,一维六单元弹簧-阻尼细胞模型<sup>[13]</sup>、二维网络细胞模型<sup>[14]</sup>、多尺度有限元细胞模型<sup>[15]</sup>等,能够模拟或解释细胞迁移过程中的一些现象和机制,但是很多实验上的发现有待从理论上加以阐述和深入研究。而且关于基质刚度变化对细胞迁移运动影响的研究仍不充分,尤其缺少对细胞在连续缓变刚度基质上的趋硬性研究。

本文在前人实验和理论研究的基础上,构建连续缓变刚度基质数学模型和细胞在这种基质上运动的有限元模型,以模拟和揭示细胞趋硬性迁移的行为特征;给出新的约束力形式,拓展有限元法的范式,克服细胞模型容易散架失效的缺陷,为求解细胞运动的数值模拟提供新的有效工具。研究结果能够用于指导人工基质材料的梯度设计,促进有关人工支架的研发。

## 1 模型与方法

### 1.1 缓变刚度基质数学模型

为考察细胞对基质变化刚度的响应,实验通常

采用一维线性变刚度(模量)水凝胶基质,其数学模型可相应地写成

$$E_{\text{sub}}(x) = k_s x + E_0 x \geq 0 \quad (1)$$

式中: $E_{\text{sub}}$ 、 $E_0$ 和 $k_s$ 分别为基质材料的弹性模量、基准弹性模量和弹性模量梯度值; $x$ 为基质上的点位坐标。Vincent等<sup>[8]</sup>利用紫外光辐照法制备具有缓变刚度性质的聚丙烯酰胺水凝胶基质,即将一定配比的水凝胶溶液用不透明度不同的光掩模遮盖置于紫外光灯下,使水凝胶溶液各不同位置接受不同的紫外光辐照量,影响其交联密度,进而改变水凝胶基质的弹性模量。光辐照法对设备和工艺的要求较低,只需更换不同透明度的光掩模即可制成不同刚度梯度的基质,且产生的基质刚度梯度较小, $k_s = (0.4 \sim 4) \text{ Pa}/\mu\text{m}$ , $E_{\text{sub}} = (1 \sim 12) \text{ kPa}$ 。为模拟细胞在缓变刚度基质上的趋硬性迁移运动,设置模拟试验中的刚度梯度计算范围为 $(1 \sim 5) \text{ Pa}/\mu\text{m}$ 。

### 1.2 基质对细胞的作用力模型

成纤维细胞的迁移运动可分解为3个步骤:细胞头部伸出、伸出部分与基质黏附、尾部收回<sup>[16]</sup>。迁移过程中3个步骤不断循环往复,完成1个循环所需要的时间称为细胞迁移运动周期<sup>[13]</sup>,记为 $T_m$ 。在第3步中,尾部收回是细胞自主收缩的结果。由于细胞存在极性<sup>[17]</sup>,其细胞头部与基质的黏结强度大于尾部。当细胞收缩时,尾部更容易与基质脱落和滑移。细胞主要靠其边缘(伪足)以黏着斑的方式与基质黏结,黏着斑是细胞膜上的受体(整合素蛋白)与基质上的配体(胶原蛋白)结合反应的生成物,具有可逆性。在细胞内部,细胞骨架(应力纤维)与伪足相连,由于肌球蛋白(Myosin)的作用,细胞骨架收缩,通过伪足把收缩力传递到基质。因此,根据牛顿第3定律,基质以与此等值反向的力拉伸细胞,该拉力的合力通常称为牵引力<sup>[18]</sup>。当细胞收缩量一定时,牵引力大小、基质抵抗压缩变形能力(抗压刚度)和细胞与基质间的黏结强度成正比,方向与细胞运动方向一致<sup>[19]</sup>。而细胞与基质间黏结强度取决于黏着斑的密度<sup>[20-21]</sup>。因此,牵引力大小表示为<sup>[22-23]</sup>:

$$F = \gamma E_{\text{cr}} C_{\text{RL}}(x, t) \quad (2)$$

式中: $\gamma$ 为黏附力系数,取值在 $10^{-6} \sim 10^{-5}$ 量级范围内<sup>[22-23]</sup>;  $E_{\text{cr}}$ 为基质最小临界模量,低于该值( $\sim 50 \text{ Pa}$ )基质不足以抵抗细胞收缩,不能对细胞施加牵

引力;  $C_{RL}(x, t)$  为细胞膜上黏着斑面密度, 由相关配受体反应动力学方程求解, 且沿细胞长度随所在基质的刚度变化而变化。

采用 Bell<sup>[24]</sup> 提出的反应动力学模型求解  $C_{RL}$ , 它是配、受体不断结合与解离的动态过程, 并且按细胞迁移运动周期重现, 可写成:

$$\frac{\partial C_{RL}}{\partial t} = k_f C_R C_L - k_r C_{RL}, \quad 0 \leq t < 0.6T_m \quad (3)$$

$$\frac{\partial C_{RL}}{\partial t} = -k_r C_{RL}, \quad 0.6T_m \leq t \leq T_m \quad (4)$$

$$C_R = C_{R0} - C_{RL} \quad (5)$$

$$C_L = C_{L0} - C_{RL} \quad (6)$$

式中:  $C_{RL}$ 、 $C_R$  和  $C_L$  分别为细胞膜上黏着斑密度、自由受体密度和自由配体密度在细胞在基质投影面上的平均值, 是时间  $t$  的函数, 且以  $T_m$  为周期。同时, 黏着斑、受体和配体在总量上满足质量守恒定律,  $C_{R0}$  和  $C_{L0}$  为初始总量值<sup>[25]</sup>; 而  $k_f$  和  $k_r$  分别为配受体的结合率和解离率<sup>[25-26]</sup>, 受基质刚度调控, 可表示为:

$$\left. \begin{aligned} k_f &= k_{f0} \frac{E_{sub}(x)}{E_m + E_{sub}(x)} \\ k_r &= k_{r0} \frac{E_{sub}(x)}{E_m + E_{sub}(x)} \end{aligned} \right\} \quad (7)$$

式中:  $k_{f0}$  和  $k_{r0}$  分别为配受体基本结合率和解离率,  $k_{f0} = 1 \times 10^{-4}$ ,  $k_{r0} = 2 \times 10^{-2}$ ;  $E_m$  为变刚度基质模量的中间值,  $E_{sub}(x)$  由式(1)确定。结合率与解离率会影响反应进行的速度, 因而基质刚度也间接决定了细胞迁移周期  $T_m$  的长短。随着基质刚度的增加, 配受体反应速率随之加快, 加速胞内物质运输, 缩短细胞运动周期。如前所述, 细胞迁移运动 1 个周期内其动作可分为 3 步, 现假设每 1 步各占约 1/3 周期。式(3)表示细胞在执行第 1、2 步, 即处于头部伸出和与基质黏着期, 此时黏着斑快速生成, 其密度增长率为受体密度  $C_R$  和配体密度  $C_L$  的乘积成正比, 同时受到其自身密度  $C_{RL}$  的抑制; 式(4)表示细胞在执行第 3 步, 即处于尾部回收期, 此时黏着斑快速解离, 且没有新的黏着斑生成。

### 1.3 细胞迁移运动的有限元模型

成纤维细胞在二维基质上运动时其形貌多成扁平长条状或梭状<sup>[27]</sup> [见图 1(a)]。本文重点关注

细胞在力学信号作用下, 胞体的速度和位移等信息, 故可将细胞的几何形状简化为杆状实体 [见图 1(b)], 材料模型采用开尔文黏弹性 (Kelvin viscoelasticity)<sup>[13-14]</sup>, 且各单元材料性质相同, 其本构关系可写成:

$$\sigma_x(x, t) = \mu_c \frac{\partial^2 u(x, t)}{\partial t \partial x} + E_c \frac{\partial u(x, t)}{\partial x} \quad (8)$$

式中:  $\mu_c$  为细胞黏性系数; 细胞弹性模量  $E_c = 1 \text{ kPa}$ <sup>[13, 23]</sup>;  $u(x, t)$  为细胞模型上任意点相对所在单元当地局部坐标系的位移。记  $u_i$  和  $u_j$  分别为杆单元左端和右端结点的位移, 则  $u(x, t)$  可表示为:

$$u(x, t) = u = u_i + \frac{u_j - u_i}{l} x = \begin{bmatrix} 1 - \frac{x}{l} & \frac{x}{l} \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} u_i \\ u_j \end{Bmatrix} \quad (9)$$

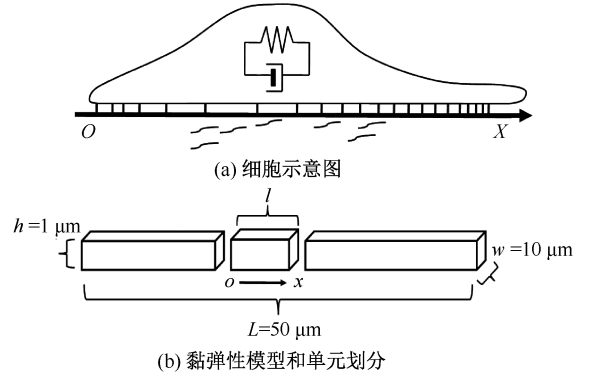


图 1 细胞形态及细胞模型示意图

Fig.1 Schematic diagram of cell morphology and cell model

(a) Cell schematic diagram, (b) Viscoelastic model and element division

由式(9)可求得单元体的应变和应变率及虚应变和虚应变率。由于细胞的变形和移动非常缓慢, 可近似为静载荷作用下的变形和位移, 因此, 根据静力条件下变形体虚位移原理, 即单元上所有结点力在结点虚位移上所做的虚功之和等于相应的虚应变能对整个单元体的积分, 可得

$$\{F_c\} = \frac{\mu_c A_{cl}}{l} \begin{bmatrix} 1 & -1 \\ -1 & 1 \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} \dot{u}_i \\ \dot{u}_j \end{Bmatrix} + \frac{E_c A_{cl}}{l} \begin{bmatrix} 1 & -1 \\ -1 & 1 \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} u_i \\ u_j \end{Bmatrix} \quad (10)$$

式中:  $\{F_c\}$  为作用在 1 个单元上的结点力列向量;

$\dot{u}_i$  和  $\dot{u}_j$  为结点速率;  $A_{c1}$  为杆单元横截面面积;  $l$  为单元长度。  $\{F_c\}$  包含细胞所受牵引力  $\{F_T\}$ , 以及细胞在运动过程所受环境阻力  $\{F_r\}$ ,  $\{F_T\}$  由式(2)~(7)计算, 而  $\{F_r\}$  可表示为:

$$\{F_r\} = -\frac{\tau A_{c2}}{l} \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} \dot{u}_i \\ \dot{u}_j \end{Bmatrix} \quad (11)$$

式中:  $\tau$  为阻力系数;  $A_{c2}$  为阻力的有效作用面积。式(11)相当于将一种动约束条件施加于结点上, 能够自动消除下列刚度矩阵的奇异性, 且能够克服模型在长时间模拟中容易失效的缺点。综合式(10)、(11), 并设

$$\begin{aligned} \{\dot{u}\} &= (\{u(t)\} - \{u^0\})/\Delta t \\ \{u^0\} &= \{u(t - \Delta t)\}, t \geq \Delta t \end{aligned}$$

再按有限元集成规则, 将各单元  $k(k=1, 2, \dots, n)$  在当地局部坐标系( $ox$ ) [见图 1(b)] 下的矩阵及向量集成为结构在整体拉格朗日坐标系( $Ox$ ) [见图 1(a)] 下的形式。最后, 细胞模型的运动方程可写成:

$$[K]\{U\} = \{F\} \quad (12)$$

式中:  $[K]$ 、 $\{U\}$  和  $\{F\}$  分别为结构的等效刚度矩阵、结点位移列向量和等效结点力列向量, 具体表达式为(求和号表示按有限元集成规则求和):

$$[K] = \sum_{k=1}^n \left\{ \left( \frac{\mu_c A_{c1}}{l\Delta t} + \frac{E_c A_{c1}}{l} \right) \begin{bmatrix} 1 + \alpha & -1 \\ -1 & 1 + \alpha \end{bmatrix} \right\}_k \quad (13)$$

$$\{U\} = \sum_{k=1}^n \begin{Bmatrix} u_i \\ u_j \end{Bmatrix}_k \quad (14)$$

$$\{F\} = \sum_{k=1}^n \left\{ \begin{Bmatrix} F_i \\ F_j \end{Bmatrix}_k + \frac{\mu_c A_{c1}}{l\Delta t} \begin{bmatrix} 1 + \beta & -1 \\ -1 & 1 + \beta \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} u_i^0 \\ u_j^0 \end{Bmatrix}_k \right\} \quad (15)$$

$$\alpha = \left( \frac{\tau A_{c2}}{l\Delta t} \right) / \left( \frac{\mu_c A_{c1}}{l\Delta t} + \frac{E_c A_{c1}}{l} \right) \quad (16)$$

$$\beta = \tau A_{c2} / (\mu_c A_{c1}) \quad (17)$$

根据设定的基质和模型初始条件, 即可计算细胞模型的结点位移和结点速度。需要注意的是, 计算过程中存在着 3 种不同的时间尺度, 即细胞迁移所经历的总时间  $t$  ( $10^4 \sim 10^5$  s), 细胞迁移周期  $T_m$  ( $10^2 \sim 10^4$  s)<sup>[13]</sup>, 以及配受体反应动力学生成物的间隔时间  $\Delta t$  ( $\sim 0.5$  s)。式(3)、(4)以及(13)~

(16)中的  $\Delta t$  取最小的时间尺度  $\Delta t = 0.5$  s 计算。

## 2 数值模拟结果

### 2.1 光掩模透明度对基质刚度梯度的影响

对紫外光灯辐照法制备变刚度水凝胶基质的实验数据(点状标记所示)<sup>[8]</sup>进行线性拟合, 得到拟合曲线(见图 2)。由此, 基质刚度梯度与光掩模不透明度梯度的关系可表示为:

$$k_s = -gr \times \omega + \omega_0 \quad (18)$$

式(18)适用于(0.4~4) Pa/ $\mu\text{m}$  生理缓变刚度梯度基质的制备。式中:  $\omega$  为光掩模不透明度梯度;  $gr = 0.016$ ,  $\omega_0 = 3.567$ 。若制备更大刚度梯度基质, 则需按照文献[8, 28]中的方法调整交联剂溶液配比, 以提高水凝胶基质的基础弹性模量。因此, 对细胞趋硬性响应数值进行模拟时, 对于任意给定的  $1 \text{ kPa} \leq E_0 \leq 12 \text{ kPa}$  和  $1 \text{ Pa}/\mu\text{m} \leq k_s \leq 4 \text{ Pa}/\mu\text{m}$ , 由式(1)和(18)可估算光聚合制备方法中光掩模不透明度梯度, 从而制备适用的水凝胶基质。

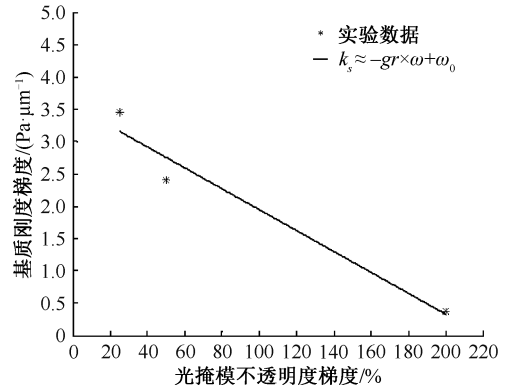


图2 细胞基质刚度梯度与光掩模不透明度梯度拟合曲线

Fig.2 Fitted curve of substrate stiffness gradient and photomask opacity gradient

### 2.2 黏着斑密度的周期性波动

细胞迁移过程是 3 阶段循环往复的动态过程, 分别为: I 细胞头部伸出, II 伸出部分与基质黏附, III 尾部收回 [见图 3(a)]。与之对应的细胞黏着斑面密度在此过程中也呈周期性变化 [见图 3(b)]。图 3(b)以  $T_m = 100$  s 的细胞运动周期为例, 采用欧拉法求解反应动力学方程得到该单个周期内黏着斑面密度随时间的变化。在第 I 阶段中, 细胞感知到环境中的梯度信号刺激后, 进行初始极化<sup>[29-30]</sup>,

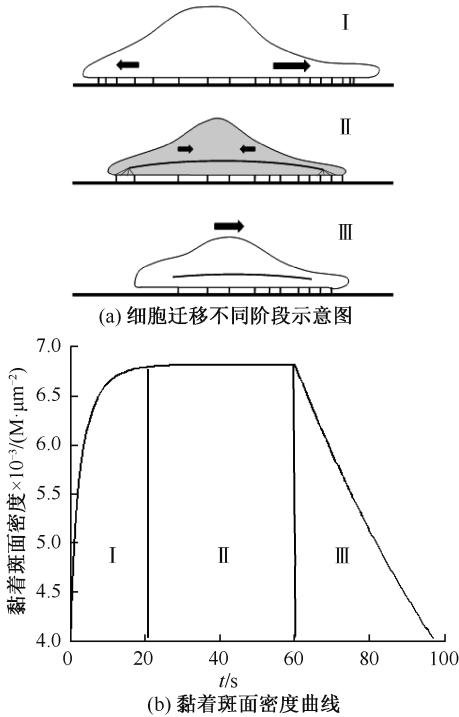


图3 细胞迁移周期与黏着斑周期变化图  
 Fig.3 Cell migration cycle and periodic variation diagram of focal adhesions (a) Schematic diagram of different stages during a cell migration cycle, (b) Focal adhesions density curve

肌动蛋白(Actin)发生极性聚合,推动细胞头部细胞膜向刺激源方向伸出伪足,随即膜受体便开始与配体结合,黏着斑密度迅速增加;第II阶段,细胞进一步招募相关蛋白将细胞与基质附着,这一过程中黏着斑密度增速变缓,黏着斑的生成和解离达到动态平衡态,完成此阶段所耗时间大约为60 s<sup>[13]</sup>;第III阶段,细胞开始进入收缩阶段,在牵引力的作用下黏着斑迅速解离,胞体向前移动。第III阶段结束时,结合态配受体密度和游离态配受体密度恢复到各自的初始水平。随细胞位置的改变,胞体所处基质的弹性模量逐渐增大,并且按式(7)对反应速率进行调控,使得细胞运动周期的长度缩短,加快了细胞内的物质运输和循环利用,在整体上有利于趋硬性的发展。

### 2.3 细胞在变刚度基质上迁移运动的动力学特征

首先观察细胞在刚度梯度  $k_s = 1 \text{ Pa}/\mu\text{m}$  基质上的迁移运动情况。由细胞前端、尾端速度在每个周期  $T_m$  内取平均值得到的速度时程曲线可见,随着

时间的延续,细胞的迁移速度逐步增大,但增速逐步减小,最终趋于平稳[见图4(a)]。这是由于迁移速度由牵引力决定,而牵引力的大小取决于黏着斑密度。随着细胞的前移,基质弹性模量虽然按式(1)增大,但黏着斑的生成和解离相互制约,在总量上保持守恒,而且黏着斑的反应速率与基质弹性模量的关系是非线性和有界的。由细胞前端、尾端每个  $T_m$  所累加的位移时程曲线(反映细胞所处位置和变形量随时间的变化)可见,随着细胞的前移,其前端和尾端位移曲线分开越来越大,表明细胞的伸长量在不断增加。但随着细胞变长,细胞体将失去弹性,使得细胞前端和尾端的速度趋向一致。此外,细胞前端、尾端在速度和位移上的差异还与胞体不同部位所受力学刺激的绝对强度有关,同等梯度下,细胞后部受到的绝对刺激较弱,因而迁移速度和位移相对较小,而前部受到的绝对刺激较强,则具有较快的迁移速度和位移。

由图4(c)、(d)所示的细胞前端、尾端迁移速度和牵引力时程曲线可知,在运动迁移前期具有明显的波动性,随后逐渐平稳。波动期间,随时间的增加,细胞前移,基质刚度增大,速度和牵引力随之增大,但波动的幅值逐渐减小,有逐渐稳定的趋势。这种随细胞运动而波动的现象,其本质原因在于黏着斑面密度在细胞迁移运动中呈周期性增减,最终导致迁移速度和牵引力的波动。随基质刚度的继续增加,黏着斑密度峰值减小,细胞运动周期随之缩短,最终达到动态平衡,进入平稳期。计算结果符合趋硬性迁移中速度与位移的基本特点和趋势,且细胞平均运动速度始终保持在  $0 \sim 1 \mu\text{m}/\text{min}$ <sup>[23,31]</sup>,并能够复现牵引力随细胞运动而波动的现象。

为进一步考察基质梯度对细胞迁移运动的影响,基质刚度梯度分别取  $1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5 \text{ Pa}/\mu\text{m}$ ,运动时间统一取  $16.7 \text{ h}(6 \times 10^4 \text{ s})$ ,计算细胞的位移和速度。以基质刚度梯度为横坐标,细胞前后结点在运动截止时间(第  $6 \times 10^4 \text{ s}$ )所对应的速度为纵坐标,得到图5(a)所示的速度对基质刚度梯度的响应曲线。同理,得到图5(b)所示的总位移对基质刚度梯度的响应曲线。随着基质刚度梯度逐渐增加,相等运动时间内细胞迁移速度和总位移也逐渐增大。当刚度梯度小于  $3.5 \text{ Pa}/\mu\text{m}$  时,增

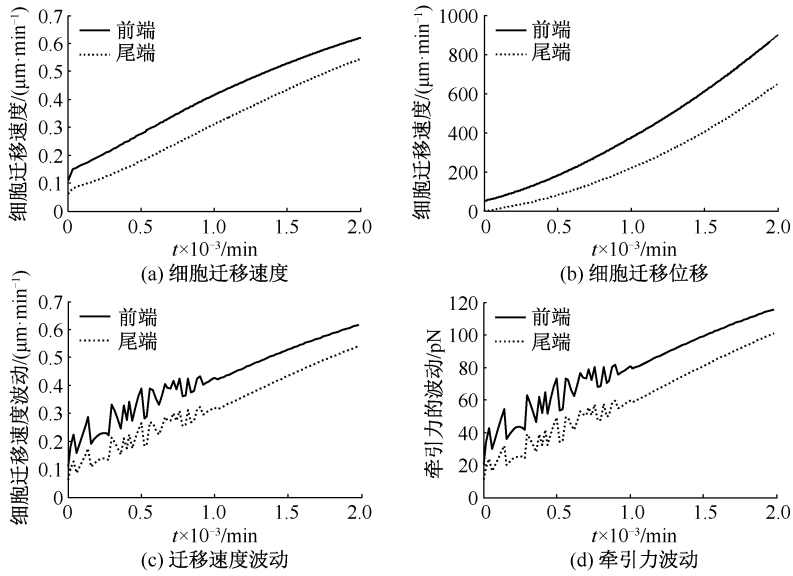


图4 细胞在刚度梯度为  $k_s = 1 \text{ Pa}/\mu\text{m}$  基质上的响应特征曲线

Fig.4 Cell response characteristic curve on substrate with stiffness gradient  $k_s = 1 \text{ Pa}/\mu\text{m}$  (a) Cell migration speed, (b) Cell migration displacement, (c) Migration speed fluctuation, (d) Traction fluctuation

加刚度梯度对于增加迁移速度和总位移的作用十分明显。当刚度梯度大于  $3.5 \text{ Pa}/\mu\text{m}$  后,继续加大刚度梯度所产生的速度效应和位移效应逐渐减弱。模拟结果体现了细胞趋硬性运动也受基质刚度梯度的影响,在一定程度内增加梯度将明显促进细胞的运动,并且在较大刚度梯度时细胞具有保持一定极限速度的能力。

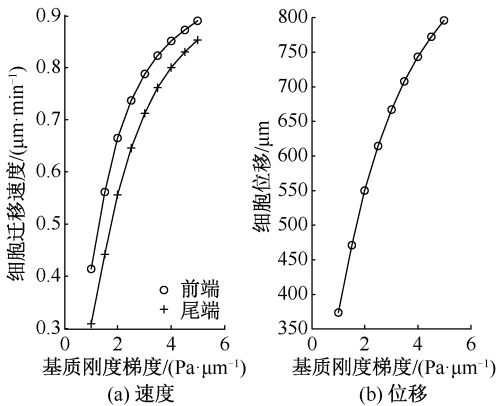


图5 基质刚度梯度对细胞迁移运动的影响

Fig.5 Influence of substrate stiffness gradient on cell migration

(a) Migration speed, (b) Displacement

为比较基质工艺参数(光掩模刚度梯度)和性能参数(基质刚度梯度)对细胞迁移运动的影响,分别统计使用不同光掩模不透明度梯度制作的基质

和具有不同基质刚度梯度的基质上,细胞前后节点的平均累计位移达到  $(774 \pm 0.5) \mu\text{m}$  时所耗时间(见图6)。细胞运动耗时与光掩模参数正相关(实线),与基质刚度梯度负相关(虚线),即光掩模不透明度梯度越小,基质刚度梯度越大,细胞到达指定位置耗时越少。

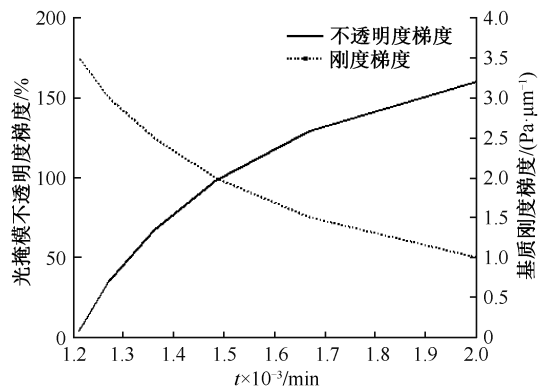


图6 光掩模不透明度梯度与基质刚度梯度对细胞运动耗时的影响

Fig.6 Effect of photomask opacity gradient and substrate stiffness gradient on cell migration elapsed time

### 3 讨论与结论

本文以成纤维细胞为模式细胞建立了细胞在缓变刚度基质上的趋硬性迁移行为的理论模型和

数值试验方法。根据实验数据,建立了与基质工艺参数相关的缓变刚度基质的数学模型,通过数值拟合得到基质刚度梯度与光掩模不透明度梯度的定量关系,以模拟生理状态的细胞环境,为人工器官支架的制作和设计提供了更加直接的制备信息,达到缩减测量环节、简化制作过程的目的。为了克服已有模型在长时间模拟中容易散架失效的缺点<sup>[14]</sup>,将常规有限元法加以改进,使环境阻尼以动约束形式施加于结点,增加了动边界的约束条件,解决了刚度方程的奇异性问题,能够延长模型的有效模拟时间。

数值模拟结果符合细胞在缓变刚度基质上趋硬性的运动特征和趋势,并符合相关的实验现象。计算结果能够复现细胞黏着斑内部的力的快速波动现象<sup>[32]</sup>(见图4),反复牵拉配受体结合部位可以有效延长成熟期黏着斑的寿命,是细胞趋硬性运动必不可少的促进性因素。同时,细胞速度与位移特征符合趋硬性现象的运动特征,细胞的平均速度与极限速度保持在 $0\sim 1\ \mu\text{m}/\text{min}$ <sup>[23,31]</sup>。增加基质刚度梯度能够增加细胞迁移运动速度与位移,但是随基质刚度梯度的增加,其对细胞迁移的增益效果将逐渐减弱(见图5)。因此,在生物支架的设计中应选择合适的基质模量,并适量增加基质刚度梯度,同时要兼顾支架的缓变刚度生理特点,使其更加接近细胞的原生生理环境。人工器官重构中,支架植入体内后将刺激成纤维细胞、内皮细胞等多种细胞参与器官或周围组织、神经的再生,使细胞能够在缓变刚度的基质上按时到达指定位置显得尤为重要。图6则从基质工艺参数和性能参数考虑,为组织工程支架的设计提供更加直观的参考,可按细胞自身特点、要求时间、指定位置选择合适的基质特点和基质制作设备。

以上所讨论的方法和求解思路不仅限于细胞迁移的一维问题,后续研究将探讨细胞在变刚度基质上的二维迁移情况。

## 参考文献:

- [ 1 ] SINGH MK, KUMAR P, BEHERA BK. Scaffolds for tissue engineering [J]. Mrs Bull, 2016, 18(10): 58-62.
- [ 2 ] 张西正. 组织工程研究的现状与进展 [J]. 医用生物力学, 2010, 25(1): 1-3.  
ZHANG XZ. Status and progress of tissue engineering re-
- search [J]. J Med Biomech, 2010, 25(1): 1-3.
- [ 3 ] 方俊, 李松. 血管组织工程的发展现状和趋势 [J]. 医用生物力学, 2016, 31(4): 333-339.  
FANG J, LI S. Advances in vascular tissue engineering [J]. J Med Biomech, 2016, 31(4): 333-339.
- [ 4 ] 张西正. 骨重建的力学生物学研究 [J]. 医用生物力学, 2016, 31(4): 356-361.  
ZHANG XZ. The research on mechanobiology mechanism of bone remodeling [J]. J Med Biomech, 2016, 31(4): 356-361.
- [ 5 ] LO CM, WANG HB, DEMBO M, et al. Cell movement is guided by the rigidity of the substrate [J]. Biophys J, 2000, 79(1): 144-152.
- [ 6 ] THOMPSON SM, JIN W, CHANDAN V S, et al. MR elastography of hepatocellular carcinoma: correlation of tumor stiffness with histopathology features—preliminary findings [J]. Magn Reson Imaging, 2017, 37: 41-45.
- [ 7 ] 张钢, 龙勉, 吴泽志. 肝癌细胞粘弹性的实验研究 [J]. 解放军医学杂志, 2001, 26(3): 204-206.
- [ 8 ] VINCENT LG, YU SC, ALONSO-LATOTTE B, et al. Mesenchymal stem cell durotaxis depends on substrate stiffness gradient strength [J]. Biotech J, 2013, 8(4): 472-484.
- [ 9 ] TSE JR, ENGLER AJ. Stiffness gradients mimicking *in vivo* tissue variation regulate mesenchymal stem cell fate [J]. Plos One, 2011, 6(1): 1-9.
- [ 10 ] POKRYWCZYNSKA M, JUNDZILL A, BODNAR M, et al. Do mesenchymal stem cells modulate the milieu of reconstructed bladder wall? [J]. Arch Immunol Ther Exp, 2013, 61(6): 483-493.
- [ 11 ] EROSHENKO N, RAMACHANDRAN R, YADAVALLI VK, et al. Effect of substrate stiffness on early human embryonic stem cell differentiation [J]. J Biol Eng, 2013, 7(1): 1-8.
- [ 12 ] 于波, 朱振安. 力学因素在间充质干细胞构建功能性组织工程软骨中的作用 [J]. 医用生物力学, 2011, 26(5): 482-486.  
YU B, ZHU ZA. Role of mechanobiology in mesenchymal stem cell-based tissue engineered cartilage [J]. J Med Biomech, 2011, 26(5): 482-486.
- [ 13 ] DIMILLA PA, BARBEE K, LAUFFENBURGER DA. Mathematical model for the effects of adhesion and mechanics on cell migration speed [J]. Biophys J, 1991, 60(1): 15-37.
- [ 14 ] DOKUKINA IV, GRACHEVA ME. A model of fibroblast motility on substrates with different rigidities [J]. Biophys J, 2010, 98(12): 2794-2803.
- [ 15 ] ZENG X, LI S. A three dimensional soft matter cell model for mechanotransduction [J]. Soft Matter, 2012, 8(21): 5765-5776.

- [16] ZHAO XK, CHENG Y, CHENG ML, *et al.* Focal adhesion kinase regulates fibroblast migration via integrin beta-1 and plays a central role in fibrosis [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(19276): 1-12.
- [17] SACKMANN E. How actin/myosin crosstalks guide the adhesion, locomotion and polarization of cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(11): 3132-3142.
- [18] HARRIS AK, WILD P, STOPAK D. Silicone rubber substrata: A new wrinkle in the study of cell locomotion [J]. *Science*, 1980, 208(4440): 177-179.
- [19] OLIVER T, LEE J, JACOBSON K. Forces exerted by locomoting cells [J]. *Semin Cell Biol*, 1994, 5(3): 139-147.
- [20] WELLS A, GUPTA K, CHANG P, *et al.* Epidermal growth factor receptor-mediated motility in fibroblasts [J]. *Microsc Res Techniq*, 2015, 43(5): 395-411.
- [21] GOLESTANEH AF, NADLER B. Modeling of cell adhesion and deformation mediated by receptor-ligand interactions [J]. *Biomech Model Mechan*, 2016, 15(2): 371-387.
- [22] ZAMAN MH, KAMM RD, MATSUDAIRA P, *et al.* Computational model for cell migration in three-dimensional matrices [J]. *Biophys J*, 2005, 89(2): 1389-1397.
- [23] WONG HC, TANG WC. Computational study of local and global ECM degradation and the effects on cell speed and cell-matrix tractions [J]. *Nano Commun Netw*, 2011, 2(2-3): 119-124.
- [24] BELL GI. Models for the specific adhesion of cells to cells [J]. *Science*, 1978, 200(4342): 618-627.
- [25] ROY S, QI HJ. A computational biomimetic study of cell crawling [J]. *Biomech Model Mechan*, 2010, 9(5): 573-581.
- [26] GRACHEVA ME, OTHMER HG. A continuum model of motility in amoeboid cells [J]. *Bull Math Biol*, 2004, 66(1): 167-193.
- [27] HAGA H, SASAKI S, KAWABATA K, *et al.* Elasticity mapping of living fibroblasts by AFM and immunofluorescence observation of the cytoskeleton [J]. *Ultramicroscopy*, 2000, 82(1-4): 253-258.
- [28] ZAARI N, RAJAGOPALAN P, KIM S, *et al.* Photopolymerization in microfluidic gradient generators: Microscale control of substrate compliance to manipulate cell response [J]. *Adv Mater*, 2004, 16(16): 2133-2137.
- [29] 冯世亮, 朱卫平. 运动细胞初始极化阶段胞内信号分子双向积聚的分子机制及动态数值模拟[J]. *中国科学:物理学力学天文学*, 2012, 42(9): 973-986.
- [30] 冯世亮, 朱卫平. 基于信号分子双向运输的运动细胞极性反转模拟[J]. *力学学报*, 2015, 47(2): 337-345.
- [31] PLOTNIKOV SV, WATERMAN CM. Guiding cell migration by tugging [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2013, 25(5): 1-13.
- [32] PLOTNIKOV SV, PASAPERA AM, SABASS B, *et al.* Force fluctuations within focal adhesions mediate ECM-rigidity sensing to guide directed cell migration [J]. *Cell*, 2012, 151(7): 1-23.