

文章编号:1004-7220(2012)04-0392-06

软骨细胞力学环境的跨尺度计算

周海宇, 李元超, 王成焘

(上海交通大学 机械与动力工程学院, 上海 200240)

摘要: **目的** 通过跨尺度计算,比较表层和深层软骨细胞的周边力学环境。**方法** 建立软骨细胞两相力学模型,将软骨两相力学模型里的结果映射到细胞模型对应边界上作为边界条件。计算细胞模型得到软骨细胞的周边力学环境并进行分析。**结果** 深层软骨细胞及周边应力比表层细胞的小一半,但都远小于细胞外的应力。软骨细胞周围基质(pericellular matrix, PCM)承担了细胞外的高应力,显著降低了细胞内的应力。两处细胞周围的间隙流动方向完全相反。**结论** 软骨承载能力使深层软骨细胞附近应力显著降低,保护了深层软骨细胞及软骨下骨。PCM承担了细胞外围高应力,保证了软骨细胞生存工作所需的低应力环境。两处细胞周围相反的间隙流动支持了由表层关节液渗透及软骨下骨营养泵入构成的软骨双向营养供给学说。

关键词: 软骨细胞; 两相力学模型; 应力; 数值计算; 生物力学

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

Multiscale computation on mechanical environment of chondrocytes

ZHOU Hai-yu, LI Yuan-chao, WANG Cheng-tao (Department of Mechanical Engineering, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: **Objective** To compare the mechanical environment of chondrocytes between superficial zone and deep zone by multiscale computation. **Methods** The chondrocyte biphasic model was set up and made the results of the articular cartilage (AC) biphasic model mapped to the corresponding borders of the chondrocyte model as the boundary condition. The chondrocyte model was computed to obtain the results of the mechanical environment of chondrocytes and analyzed. **Results** The results showed that the stress of chondrocytes at deep zone was half of that at superficial zone, but both were much smaller than those outside chondrocytes. The pericellular matrix (PCM) sustained the high stress outside chondrocytes and remarkably reduced the stress inside chondrocytes. Interstitial flow directions adjacent to two chondrocytes were totally the opposite. **Conclusions** The bearing property of AC reduced the stress near chondrocytes at deep zone prominently and protected the chondrocytes at deep zone and subchondral bone. PCM sustained the high stress outside chondrocytes to provide lower stress environment for chondrocytes living. The opposite interstitial flow direction of two chondrocytes supported the theory that synovia seepage from cartilage surface and nutrient pumped out from subchondral bone constitute the bidirectional nutrient supply in AC.

Key words: Chondrocyte; Biphasic model; Stress; Numerical computation; Biomechanics

关节软骨是人体关节中非常好的承载减磨材料^[1],而这种优异特性与关节软骨细胞代谢是离不开的。关节软骨细胞要维持软骨的正常运行,离不开软骨提供的周边力学环境。这些力学环境包括施

加在软骨细胞及其周边基质的应力、输送营养的间隙流动以及调控细胞活动的各种力、电、化学等信号。其中应力、间隙流动对软骨细胞的生存和正常活动影响最大,是人工关节设计、细胞力学及组织工

收稿日期:2011-09-09; 修回日期:2011-10-09

基金项目:国家自然科学基金重大国际合作研究项目(30810103908/C100203)。

通讯作者:王成焘,教授,博士研究生导师, Tel: (021)34206097; E-mail: ganvedo@sjtu.edu.cn。

程学的研究重点^[2-6]。

长期以来,人们对正常软骨细胞周边的力学环境知之甚少;因为要保持软骨细胞活性就不能使用常规的化学试剂,同时缺乏测量细胞应力及软骨内间隙流动的方法。由于实验技术无法在短时间里获得突破,通过数值计算来取得软骨细胞及其周边力学环境就显得尤为重要。一般软骨整体几何度量是毫米级的,而软骨细胞直径在 10 μm 左右。两者的尺度差异使得软骨细胞有限元计算与软骨整体不能同时进行,不同尺寸的网格划分构成一个跨尺度计算问题。

针对这类问题较流行的解决方法是 3 步走策略:(1) 使用软骨模型进行软骨整体的受力计算,提供软骨整体的位移及其内部液体压力;(2) 根据需建立合适的软骨细胞力学模型;(3) 将软骨模型中对应位置的结果与软骨细胞模型里所需的对应边界建立映射。这样就把第(1)步计算的结果传递到软骨细胞模型中作为新的边界条件。以新的边界条件计算软骨细胞模型,才能取得软骨细胞及周边的力学数据。这种 3 步走策略的关键在于软骨模型要尽可能精准,并且能够和软骨细胞模型顺利衔接。

软骨模型的研究最早可以追溯到 19 世纪,目前广泛使用的软骨模型是 Mow 等学者在 20 世纪 80 年代采用物理学中的混合理论而建立起的软骨两相多孔介质模型^[7]。该模型考虑了软骨固相基质与间隙流动的耦合作用,提出软骨应力的本构关系为

$$\sigma = \mathbf{C}\mathbf{e} - p\mathbf{I} \quad (1)$$

式中: σ 称为软骨应力, \mathbf{C} 为固相基质的弹性矩阵,由弹性模量 E 与泊松比 ν 构成; \mathbf{e} 为应变矩阵, $\mathbf{C}\mathbf{e}$ 为固相应力。 p 为孔隙压力, \mathbf{I} 为单位矩阵, $p\mathbf{I}$ 为液相应力。Farshid^[8]采用这种两相力学模型进行了软骨细胞的跨尺度计算,但是当时所使用的两相模型过于简单,忽略了软骨深度方向上的力学特性差异,而且并未对软骨细胞周边的间隙流动进行分析。软骨细胞周边间隙流动带来的营养物质是软骨细胞获得营养的唯一途径,对细胞的生理活动及新陈代谢具有重要意义。同时,软骨间隙流动计算中忽略软骨深度方向上的力学特性差异会造成截然相反的结果^[9],故软骨模型中还必须考虑深度方向上的力学特性差异。

软骨细胞的力学建模大体可分为连续介质力学建模方法和纳米微结构建模方法^[10]。连续介质力学建模不考虑细胞的微观结构,仍以连续介质来处

理细胞,形成了软骨细胞弹性、黏弹性、两相与液泡等力学模型。其中,软骨细胞两相力学模型与软骨两相力学模型具有相同的本构关系与控制方程,将两者衔接不仅不需任何衔接处理,而且又能得到软骨细胞及其周边的应力应变、间隙流动。另一方面,纳米微结构建模侧重于细胞内的微结构,适用于单个细胞内部的研究。

综上所述,本文在早先软骨非线性两相力学模型的结果基础上^[8,11],建立了软骨细胞两相力学模型,通过边界映射将两个模型衔接到一起,实现了软骨细胞的跨尺度数值计算。并且利用该数值计算,比较了表层与深层软骨细胞及其周边的应力、间隙流动,为人工关节设计、细胞力学及软骨组织工程提供了参考。

1 控制方程

在无物质反应、无质量交换、等温以及固体基质与液体皆不可压缩的条件下,软骨及软骨细胞的二维非线性两相模型控制方程为:

$$k\left(\frac{\partial^2 p}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 p}{\partial y^2}\right) = \frac{\partial \varepsilon}{\partial t} \quad (2)$$

$$\frac{\partial \sigma}{\partial x} + \frac{\partial \sigma}{\partial y} = 0 \quad (3)$$

这在数学上与 COMSOL 中多孔介质模型的控制方程是相同的。式中: k 为渗透率; p 为孔隙压力; ε 为体积应变,即 $\varepsilon = \frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y}$; u, v 分别为 x, y 方向的固体基质位移; σ 为软骨应力。

根据上文所述,软骨模型中力学参数都需要考虑软骨深度带来的差异。首先依赖深度变化的泊松比是参考 Salman 等学者的实验结果^[12],其泊松比依赖深度变化的线性拟合公式:

$$\nu(y) = 0.05 + 0.1(y/h) \quad (4)$$

式中: y 为软骨从表面算起的深度; h 为软骨厚度。

结合式(4),使用压缩模量和弹性模量的转换公式

$$E = \frac{H_A(1 + \nu)(1 - 2\nu)}{1 - \nu} \quad (5)$$

能够得到依赖深度变化的固相基质弹性模量 E 。式中: H_A 为压缩模量,可以参考 Schinagl 等^[13]软骨压缩模量的实验结果。

最后依赖深度变化的非线性渗透率^[14]表达式为

$$k = k_0 \Psi(y) \exp(M\varepsilon) \quad (6)$$

式中: k_0 为软骨的参考渗透率, 引用最新的实验数据, 取 $k_0 = 2 \times 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$; M 为材料常数, 依文献取为 23. $\Psi(y)$ 为深度分布函数:

$$\Psi(y) = 1 + 4.3(y/h) - 7.8(y/h)^2 + 3.1(y/h)^3 \quad (7)$$

2 计算设置

跨尺度计算的第 1 步, 软骨两相力学模型(见图 1(a))的计算流程和结果参看文献[11]。该计算结果中包含了 u, v, p , 即软骨的 X, Y 位移和液体压力 3 个未知量, 将为软骨细胞模型提供边界条件。建立软骨细胞模型同样使用了 COMSOL3. 5a 中的多孔介质模块, 其几何模型以及网格划分如图 1(b) 所示, 涉及软骨细胞周边 $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ 的毗邻区域。该区域外围主要是细胞外基质(extracellular matrix, ECM), 而细胞则处于正中 $20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$ 的区域内(见图 1(c))。正中方形区域按结构从外到内分别为 ECM、细胞周围介质(pericellular matrix, PCM)及软骨细胞。这 3 类区域的力学参数是不同的。ECM 使用与软骨力学模型中相同的力学参数, 使边界及外围区域的计算能够平缓过渡。PCM 是一种过渡组织, 引用文献[15]提供的数据, $E_{\text{PCM}} = 40 \text{ kPa}$, $v_{\text{PCM}} = v_{\text{ECM}}$, $k_{\text{PCM}} = 1 \times 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ 。软骨细胞的材料参数根据文献[15], 设为 $E_{\text{cell}} = 4 \text{ kPa}$, $v_{\text{cell}} = 0.45$, $k_{\text{cell}} = 2 \times 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ 。

进行比较的表层与深层软骨细胞在软骨中的对应位置标记在图 1(a)中。只要在 COMSOL 中平移软骨细胞模型(见图 1(b))至图中的表层、底层位置, 就能利用坐标把第 1 步中已有的软骨计算结果映射到软骨细胞模型的 4 条外边界上, 即

$$u_i^{\text{cell}} = u_i^{\text{ac}}, \quad v_i^{\text{cell}} = v_i^{\text{ac}}, \quad p_i^{\text{cell}} = p_i^{\text{ac}} \\ i = 1, 2, 3, 4$$

其中, 上标 cell 表示软骨细胞模型的边界, ac 表示

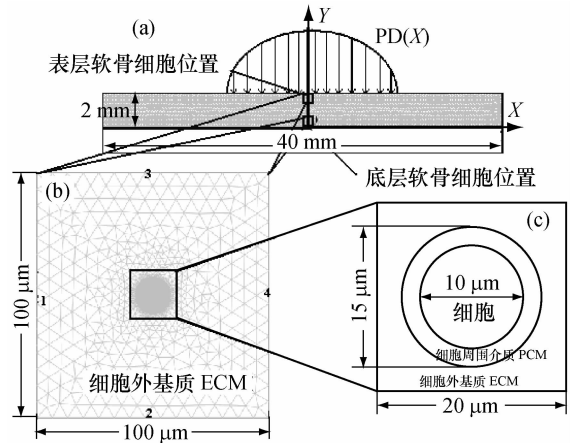


图 1 软骨与软骨细胞几何模型
Fig. 1 Geometry of articular cartilage and chondrocyte

与边界位置处对应的软骨模型计算结果; 下标 i 为边界序号, 对应图 1(b) 中 4 条外围边界。由于两相模型只有 u, v, p 3 个未知量, 故只要在每条边界上设定了这 3 个量, 就能进行下一步软骨细胞模型的计算。

软骨细胞模型的计算精度设为相对误差 10^{-3} , 计算时间 0 ~ 100 s, 解算器为 Direct(UMPACK), 时间步长解算器会根据收敛情况自动调节。整个计算域采用二阶三角网格划分(见图 1(b)), 外围 ECM 网格密度较为稀疏, 以节省计算资源; 而中心的细胞及其附近使用了高密度网格, 保证细胞内的计算精度。考虑累计误差, 网格独立性检验使用 100 s 时的结果(见图 2)。当前使用的网格与更密网格的结果相比, u, p 两个结果完全重合, 只有 v , 即 y 方向位移存在较小误差, 但该相对误差小于 10^{-4} ; 因此, 图 1(b) 中的网格划分通过了网格独立性检验, 能用其进行求解。

3 结果

计算结果在 10 s 左右已趋于稳定, 故取 10 s 时的结果进行分析比对。

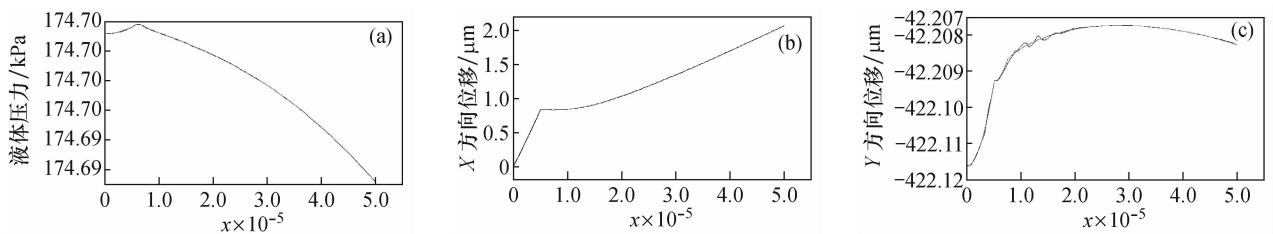


图 2 不同网格密度结果(100 s)比较 (a) 液体压力, (b) X 方向位移, (c) Y 方向位移

Fig. 2 Results using different mesh densities (100 s) (a) Pressure, (b) X-displacement, (c) Y-displacement

3.1 软骨细胞及周边的 Mises 应力

表层与深层软骨细胞周边的 Mises 应力分布如图 3 所示。两者共同点是在细胞区域外围都存在几 kPa 的高应力,细胞内应力水平明显降低并接近最小应力值。而两者不同点在于表层与深层细胞周边的应力值存在很大差异。表层细胞由于接近载荷,其周边应力明显高于远离载荷的深层细胞。从图 3 数据可知,深层细胞周边应力(2~3.5 kPa)仅相当于表层细胞周边应力(5~6.5 kPa)的 1/2,可见施加于表层的载荷通过软骨层到达底部时已明显降低。这说明软骨本身得益于自身较好的承载能力,这种能力能够保护软骨深层及底骨在日常活动中不受高强度循环应力的疲劳破坏。

3.2 软骨细胞内的 Mises 应力

表层与深层细胞内部的 Mises 应力如图 4 所示。表层细胞应力分布较为规则(见图 4(a)),沿细胞外圈分布着高应力,越向中心应力越低。这一

点很符合细胞本身液泡状的结构。细胞膜内包裹了大量细胞液,各种细胞器悬浮于其中。外载荷施加给细胞时,细胞液受压平衡了外载荷,而这些液体压力集中作用在细胞膜上。因此,细胞外圈即细胞膜附近出现了较大应力,而内部则要小一些。深层细胞内应力分布和表层比较相似,但上部应力明显偏大。这与深层细胞周边应力(见图 3(b))的上部偏大是一致的。

由图 4 可知,表层细胞内应力平均值约为 750 Pa,远大于深层细胞内应力平均值约 25 Pa。事实上真实的表层软骨细胞都是扁平状的,更能承受压力。计算中软骨细胞都使用圆形是为了便于比较。两处细胞内部的应力均远小于 ECM 区域几 kPa 的应力。结合前面细胞周边应力差异的分析,说明细胞生存所需的应力不同于外围 ECM 的高应力,要小得多。两者间形成的巨大应力落差需要过渡,即插入在 ECM 与细胞间的另一种细胞基质 PCM。

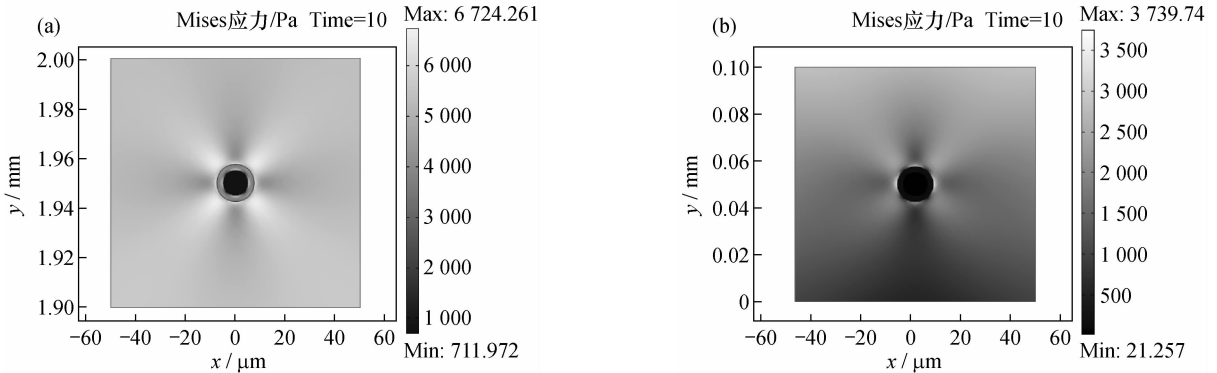


图 3 软骨细胞及周边的 Mises 应力 (a) 表层细胞, (b) 深层细胞

Fig. 3 Mises stress around the chondrocyte (a) Chondrocyte at superficial zone, (b) Chondrocyte at deep zone

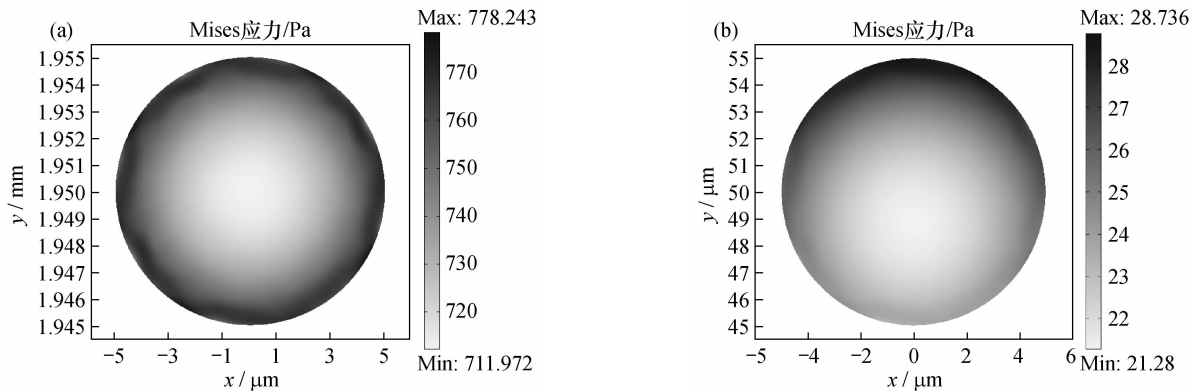


图 4 软骨细胞内 Mises 应力 (a) 表层细胞, (b) 深层细胞

Fig. 4 Mises stress in the chondrocyte (a) Chondrocyte at superficial zone, (b) Chondrocyte at deep zone

3.3 PCM的Mises应力

PCM是一种由细胞分泌、组装,包裹在细胞外的一层基质。软骨细胞的生理活动与这层包裹组织PCM是离不开的。图5显示深层PCM应力小于表层PCM应力,这与图3显示的两个位置细胞周边应力差异是一致的。其次,PCM这层结构的应力范围的最大值都接近外界应力,并在内圈呈现出八瓣状的高低应力交替。这表明外界应力都集中作用在了PCM内圈上,使得内部细胞所受的应力大大降低

(见图4),但PCM内圈处的应力集中势必导致其在日常活动中加速疲劳破坏。巧妙地是PCM内圈紧贴细胞膜,此处正是细胞分泌基质材料并进行组装、替换的场所。疲劳组织在此处可以得到软骨细胞最及时的替换,即PCM的保护作用与软骨细胞及时的更新替换是分不开的。因此,文献中把软骨细胞与PCM合起来称为软骨单位,作为软骨中最基本的功能结构^[16-17]。

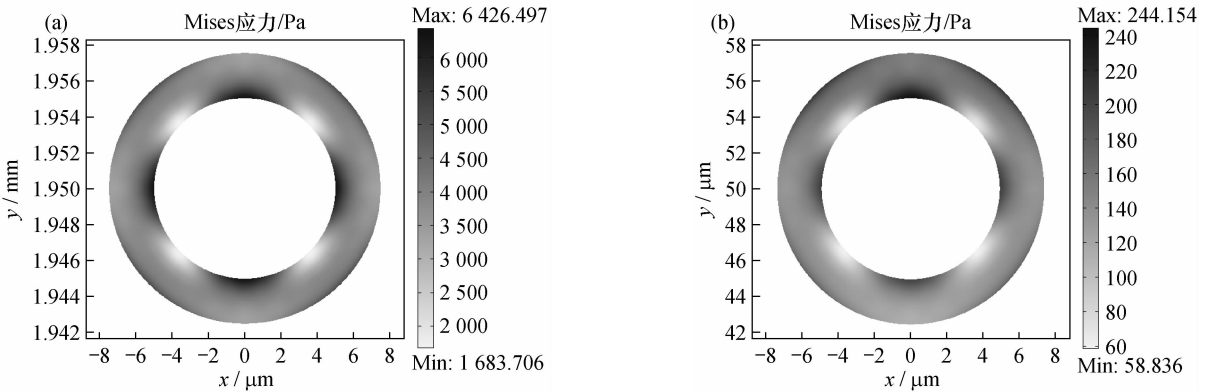


图5 PCM的Mises应力 (a)表层PCM,(b)深层PCM
Fig.5 Mises stress on PCM (a) PCM at superficial zone, (b) PCM at deep zone

3.4 软骨细胞周围的流场

表层与深层细胞周边的流场分布十分相似,但是完全反向(见图6)。细胞生存所需的营养是靠间隙流动进行供给的,图6(a)显示表层细胞的营养来自关节液从表层向下的渗透;而深层细胞周边的流场却是向上的,说明其营养供给不是从表层渗透下来的,而是从底部往上的。近年来许多研究显示,软骨钙化层至软骨底骨存在渗透性而非早先的不可渗透^[18-19]。Michael等^[20]报道在向软骨施加载荷的过程中,可以将富含微血管的软骨下骨中的营养物质泵入到软骨中,相当于在软骨底部开辟了一条新的营养供给通道。图6(b)的结果显示,软骨在加载后,其深层出现向上的间隙流动,正好能把底部泵出的营养带上来,支持了软骨底部存在营养供给通道这一观点。

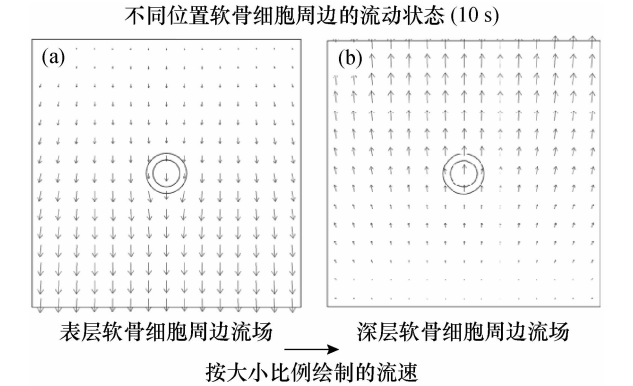


图6 软骨细胞周围的流场 (a)表层细胞附近流场,(b)深层细胞附近流场
Fig.6 Flow around the chondrocytes (a) Chondrocyte at superficial zone, (b) Chondrocyte at deep zone

所以软骨中存在双向营养供给,即表层至软骨中部由表层关节液向下渗透进行供给,而软骨深层则通过向上的间隙流动把底部泵入的营养带上来进行供给。在许多有关软骨两相力学模型的计算文献中,都能看到这两股相反的间隙流动在软骨中部交

汇^[21-22]。软骨采用双向供给可以大大缩短供给距离,提高营养供给效率,是软骨进化过程中不断优化的结果。如果深层的供给通道被截断,软骨将步入缓慢的退化过程,并逐步发展成关节炎^[23]。

细胞周边的流场还对关节造影、药物注射治疗有很大影响。造影剂或药物注射进入关节腔后完全

靠渗透作用进入软骨中。根据本文的计算结果,这种渗透只能到达软骨中上部,软骨深层无法到达,除非移除软骨上的载荷使其自然扩散。因此,接受关节造影、注射治疗后最好能避免关节受力,使药物能充分渗透扩散到整个软骨。另外,由于软骨深层的流动从下往上,也为关节造影、药物治疗提供了新思路。

4 结语

软骨的承载能力使得深层软骨细胞周边应力明显低于表层软骨细胞周边应力,从而保护了软骨深层及底骨,降低了高强度循环应力的疲劳破坏。软骨细胞内与外界基质的应力差异很大,需依赖 PCM 承受外围高应力来维持细胞生存工作所需的低应力环境。两处软骨细胞周边相反的间隙流动支持了由表层关节液渗透和软骨下骨泵入构成的双向营养供给学说。

参考文献:

- [1] 王成焘. 天然与人工关节中的摩擦学问题[J]. 医用生物力学, 2009, 24(5): 317-325.
Wang CT. Tribology problems in natural and artificial joint [J]. J Med biomech, 2009, 24(5): 317-325.
- [2] 张春秋, 武汉, 叶金铎, 等. 关节软骨体外构建力学环境的研究进展[J]. 医用生物力学, 2009, 24(6): 462-467.
Zhang CQ, Wu H, Ye JD, *et al.* Advances of mechanical conditions in engineering cartilage tissue [J]. J Med Biomech, 2009, 24(6): 462-467.
- [3] Maximilian E, Clare EY, Christopher R, *et al.* Oscillating fluid flow regulates cytosolic calcium concentration in bovine articular chondrocytes [J]. J Biomech, 2001, 34(1): 59-65.
- [4] Plumb MS, Aspden RM. The response of elderly human articular cartilage to mechanical stimuli in vitro [J]. Osteoarthritis and Cartilage, 2005, 13(12): 1084-1091.
- [5] Waldman SD, Couto DC, Grynepas MD, *et al.* A single application of cyclic loading can accelerate matrix deposition and enhance the properties of tissue-engineered cartilage [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2006, 14(4): 323-330.
- [6] Mario AA, Daniele D, Philippa MC. Experimental and numerical investigation of the behaviour of articular cartilage under shear loading-Interstitial fluid pressurisation and lubrication mechanisms [J]. Tribol Inter, 2011, 44(5): 565-578.
- [7] Bernhard SR, Ulrich S, Hans G, *et al.* Mechanically induced electrical potentials of articular cartilage [J]. J Biomech, 2002, 35(4): 475-482.
- [8] Mow VC, Kuei SC, Lai WM, *et al.* Biphasic creep and stress relaxation of articular cartilage in compression: Theory and experiments [J]. J Biomech Eng, 1980, 102(1): 73-84.
- [9] Farshid G, Mow VC. The mechanical environment of the chondrocyte: A biphasic finite element model of cell-matrix interactions in articular cartilage [J]. J Biomech, 2000, 33(12): 1663-1673.
- [10] Lim CT, Zhou EH, Quek ST. Mechanical models for living cells-A review [J]. J Biomech, 2006, 39(2): 195-216.
- [11] 周海宇, 李元超, 王成焘. 力学参数随深度变化的关节软骨数值模拟[J]. 医用生物力学, 2011, 26(2): 168-172.
Zhou HY, Li YC, Wang CT. Articular cartilage simulation using depth-dependent mechanical parameters [J]. J Med Biomech, 2011, 26(2): 168-172.
- [12] Chegin S, Ferguson SJ. Time and depth dependent poisson's ratio of cartilage explained by an inhomogeneous orthotropic fiber embedded biphasic model [J]. J Biomech, 2010, 43(9): 1660-1666.
- [13] Schinagl RM, Gurskis D, Chen AC, *et al.* Depth-dependent confined compression modulus of full-thickness bovine articular cartilage [J]. J Orthop Res, 1997, 15(4): 499-506.
- [14] Mansour J, Mow VC. The permeability of articular cartilage under compressive strain and high pressure [J]. J Bone Joint Surg Am, 1976, 58(4): 509-516.
- [15] Leonidas GA, Lori AS, Farshid G. The biomechanical role of the chondrocyte pericellular matrix in articular cartilage [J]. Acta Biomater, 2005, 1(3): 317-325.
- [16] 伏治国, 董启榕. 关节软骨细胞和细胞周基质的压缩特性及其对软骨细胞代谢的影响 [J]. 医用生物力学, 2008, 23(1): 92-96.
Fu ZG, Dong QR. Compressive mechanical properties of chondrocyte and pericellular matrix and its influence on the metabolic activity of chondrocyte [J]. J Med Biomech, 2008, 23(1): 92-96.
- [17] Gidon O, Roman MN, Kyriacos AA. In situ mechanical properties of the chondrocyte cytoplasm and nucleus [J]. J Biomech, 2009, 42(7): 873-877.
- [18] Pan J, Zhou XZ, Li W, *et al.* In situ measurement of transport between subchondral bone and articular cartilage [J]. J Orthop Res, 2009, 27(10): 1347-1352.
- [19] Arkill KP, Winlove CP. Solute transport in the deep and calcified zones of articular cartilage [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2008, 16(6): 708-714.
- [20] Michael BA, Rajan EB, Roland Li, *et al.* Dynamic loading of immature epiphyseal cartilage pumps nutrients out of vascular canals [J]. J Biomech, 2011, 44(9): 1654-1659.
- [21] Pawaskar SS, Jin ZM, Fisher J. Modeling of fluid support inside articular cartilage during sliding [J]. Proc Inst Mech Eng, Part J: J Eng Tribol, 2007, 221(3): 165-174.
- [22] Sakai N, Hagihara Y, Furusawa T, *et al.* Analysis of biphasic lubrication of articular cartilage loaded by cylindrical indenter [J]. Tribol Int, 2012, 46(1): 225-236.
- [23] Malinin T, Ouellette EA. Articular cartilage nutrition is mediated by subchondral bone: A long-term autograft study in baboons [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2000, 8(6): 483-491.