

文章编号:1004-7220(2009)01-0021-07

灌注式生物反应器中大段多孔磷酸三钙载体 内流场分布的模拟研究

孙晓江^{1,2}, 戴尅戎^{1,2}, 汤亭亭¹, 谢幼专¹, 江兴贤³, 卢建熙^{1,4}

(1. 上海交通大学医学院附属第九人民医院骨科, 上海 200011; 2. 上海交通大学教育部数字医学工程研究中心, 上海 200030;
3. 西迪阿特堆息科技有限公司, 上海 200002; 4. 上海贝奥路生物材料有限公司, 上海 200335)

摘要: 目的 对灌注式生物反应器中大段多孔磷酸三钙载体内流场分布进行模拟研究。方法 使用计算流体力学(computational fluid dynamics, CFD)方法对我们自行设计的灌注式生物反应器中大段多孔 β -TCP载体内流场分布情况进行了模拟研究,并对不同灌注速度条件下载体材料内的流体剪切应力进行了计算。结果 利用CFD方法可以很好的模拟三维载体材料内的流场分布,并可以对载体材料内部的流体剪切应力进行计算。在我们的灌注反应体系中,3 ml/min,6 ml/min及9 ml/min灌注速度条件下载体内主要区域的流速值分别为 (0.227 ± 0.062) mm/s、 (0.459 ± 0.125) mm/s以及 (0.701 ± 0.193) mm/s,而相应的流体剪切应力值分别为 5.2 ± 1.5 mPa、 10.6 ± 3 mPa以及 16.2 ± 4.6 Pa。结论 利用计算流体力学(CFD)这一计算模型可以进行不同灌注系统之间结果的比较及不同显微结构载体之间结果的比较。并且可以根据细胞实验结果选择适于细胞分布增殖或者分化的流体剪切应力值,进而为组织工程中生物反应器的流速选择以及载体材料结构的加工提供依据。

关键词: 计算流体力学; 生物反应器; 流体剪切应力; 多孔载体

中图分类号: R318.01 文献标志码: A

Simulation of flow field within large scale porous β -TCP scaffold in perfusion bioreactor

SUN Xiao-jiang^{1,2}, DAI Ke-rong^{1,2}, TANG Ting-ting¹, XIE You-zhuan¹, JIANG Xing-xian³, LU Jian-xi^{1,4}. (1. Department of Orthopaedics, Ninth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao-tong University School of Medicine, Shanghai, 200011, China; 2. Engineering Research center of Digital Medicine, Ministry of Education, Shanghai 200030, China; 3. Fluent Software Co. Ltd, Shanghai, 200002, China; 4. Shanghai Bio-lu Biomaterials Co. Ltd., Shanghai, 200335, China)

Abstract: Objective To simulate the flow field within large scale porous β -TCP scaffold in perfusion bioreactor. **Method** The computational fluid dynamics (CFD) method was used to simulate the flow conditions within large scale porous β -TCP scaffold in our newly designed perfusion bioreactor. The velocity field and the flow shear stresses within the scaffold at different perfusion flow rates were estimated by our simulation model. **Result** The velocity field and the flow shear stress throughout the scaffold could be well simulated with this method. The corresponding flow velocities in the scaffold pores at flow rate of 3 ml/min, 6 ml/min and 9 ml/min were (0.227 ± 0.062) mm/s, (0.459 ± 0.125) mm/s and (0.701 ± 0.193) mm/s. The flow shear stresses within the scaffold at flow rate of 3 ml/min, 6 ml/min and 9 ml/min were 5.2 ± 1.5 mPa, 10.6 ± 3 mPa and 16.2 ± 4.6 mPa respectively. **Conclusions** This simulation modeling could be used to compare results obtained

收稿日期:2009-02-09

基金项目:上海市骨科内植物重点实验室建设基金(08DZ2230330);国家自然科学基金资助项目(30600629)

作者简介:孙晓江(1978-),博士,研究方向:生物反应器在骨组织工程中的应用;并列第一作者:江兴贤(1979-),研究方向:CFD仿真模拟。

通讯作者:戴尅戎,院士,教授,博士生导师。E-mail:krdai@163.com

from different perfusion bioreactor systems or different scaffold microarchitectures. It could allow specific shear stresses to be determined that optimize the distribution, proliferation or differentiation of seeded cells and the microarchitectures of the scaffold.

Key words: Computational fluid dynamics (CFD); Bioreactor; Flow shear stress (FSS); Porous scaffold

在组织工程化骨体外构建过程中,接种于三维载体材料内的细胞通常是采用静态培养方法进行培养,在这种传统培养方法下,细胞的营养物质以及代谢废物的运输是通过弥散作用实现,载体内细胞的生长范围仅限于载体表面。例如,聚羟基乙酸(PGA)载体上软骨细胞仅在距表面 $400\ \mu\text{m}$ 范围内形成氨基葡聚糖^[1],接种到多聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)载体上的 hMSCs 形成的矿化基质仅达到距表面 $240\ \mu\text{m}$ 处^[2]。而将羊的骨髓基质干细胞接种到 β -磷酸三钙(β -TCP)中进行静态培养时,发现通过弥散作用进行营养供应以确保细胞存活的最大有效距离约为 $1600\ \mu\text{m}$,确保细胞能够充分增殖的最大有效距离约为 $530\ \mu\text{m}$ ^[3]。为改善组织工程化骨体外构建过程中载体内部细胞的营养供应,近年来在骨组织工程领域出现了各种类型的生物反应器,其基本原理主要是:利用生物反应器使细胞/载体复合体周围或内部的培养基流动起来,减少物质弥散的限制作用,这样,流动的培养基可以同时通过对细胞施加流体介导的剪切应力刺激、张力刺激以及静水压力刺激影响细胞的增殖及分化^[4, 5]。有研究表明,液体流动产生的流体剪切应力刺激对于成骨细胞的影响远远大于静水压力刺激或者基质变形引起的牵张拉伸应力的刺激^[4, 6]。灌注式生物反应器可以使培养基持续通过载体内部的微孔,使载体中心的细胞也能获得充分的营养及适当的流体剪切应力刺激,从而刺激干细胞增殖分化,增加矿化基质的沉积,并使得细胞与基质成分在载体材料中均匀分布。可见,灌注式生物反应器明显优于旋转式和搅拌式反应器^[7-9],因此在骨组织工程领域得到了广泛应用。在利用灌注式生物反应器对细胞进行三维动态培养时,载体内局部的流体剪切应力与流体的流速、动力粘度、反应器的构造以及载体材料的显微结构有关。先前有研究从流速与细胞增殖分化的关系说明流体剪切应力对于干细胞增殖分化的影响^[7, 10],但是因为各个研究小组所设计的灌注式生物反应器各不相同,用于进行三维动态培养的载体材料的形

状及显微结构(孔径、孔连通径等)也不尽相同,所以不同研究之间灌注速度差异很大,导致研究结果之间无法进行比较。为此,需要对不同灌注速度条件下载体内的流体剪切应力加以估计,将灌注速度转换为流体剪切应力,才能更直接地量化流体剪切应力对于细胞增殖分化的影响,并有利于将不同灌注系统之间以及不同显微结构载体材料间的研究结果进行比较。由于目前还没有高灵敏度的微型压力感受器,对于多孔载体内的流体剪切应力的估计只能通过数学模拟的方法来推算。

本研究利用计算流体力学(Computational fluid dynamics, CFD)方法模拟大段多孔 β -TCP 载体内三维流场分布情况,并对不同灌注流速条件下多孔载体内的流体剪切应力的分布变化情况进行了研究。

1 材料与方法

1.1 灌注式生物反应器

我们采用自行设计的灌注型生物反应器(图1)对复合人骨髓间充质干细胞的大段多孔 β -TCP 载体材料进行三维动态灌注培养。

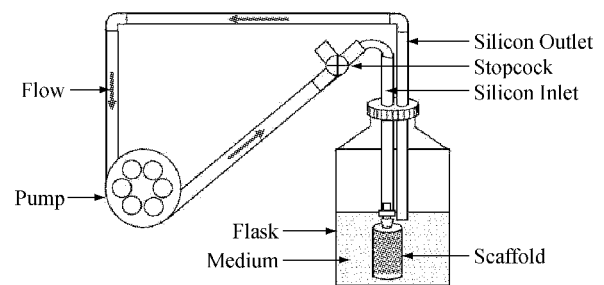


图1 灌注式生物反应器示意图

Fig.1 The diagram of the perfusion bioreactor

1.2 大段多孔 β -TCP 载体三维结构的模型建立

本研究中所选用的大段多孔 β -TCP 载体材料由法国 Biocetis 公司提供,直径为 $14\ \text{mm}$,高 $30\ \text{mm}$,载体中心有一隧道,直径 $3.5\ \text{mm}$,长 $25\ \text{mm}$ 。载体孔隙率为 75% ,孔径为 $(530 \pm 100)\ \mu\text{m}$,孔连通径为

(150 ± 50) μm (图 2)。圆柱状的多孔载体关于中心轴对称,因此可以取中轴面作为代表面建立按照小球随机排列的二维结构模型^[11](图 3)。其控制指

标为孔径(约 500 μm)、孔连通径(约 150 μm)和孔隙率(约 75%)。

图 2 多孔 β -TCP 载体大体几何结构及显微结构观察

Fig.2 The geometry and microstructure of the porous β -TCP scaffold

图 3 多孔 β -TCP 载体材料二维模型的建立

Fig.3 2-D model of the porous β -TCP scaffold

1.3 网格划分

将几何文件读入到 ANSYS11.0 中,然后对网格参数进行设置和控制,合理分布网格尺寸。该项目中设置全局网格最大尺寸为 0.5 mm。网格与网格之间采用合理的过渡,使之分布比较均衡。在曲率比较大的地方对网格进行加密,利用 ANSYS11.0 的 Smartsize 模块可以自动通过曲线的曲率计算网格尺

寸大小;另外由于要计算物体表面的应力和考虑到流体边界层的存在,在物面附近要布置比较密的网格。网格类型全部为三角形网格,节点数为 201549 个,单元数为 368059 个(图 4)。

图 4 网格设计

Fig.4 The design of the grid

1.4 求解参数设定

1.4.1 求解方程

假定流体为均匀、粘性、不可压缩的牛顿流体,入口流速均匀,使用 Navier-Stokes 方程组:

$$\partial \frac{\partial}{\partial x_j} (\rho u_i u_j) = - \frac{\partial P}{\partial x_i} + \frac{\partial}{\partial x_j} (\mu \frac{\partial u_i}{\partial x_j}) + F \quad (1)$$

式中: x_j 为 j 方向; ρ 为流体的密度, $\rho = 1 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$; u_i 为 i 方向的速度分量, 简化为二维结构因此 $i = 1, 2$; u_j 为 j 方向的速度分量, 简化为二维结构因此 $j = 1, 2$; P 为多孔材料孔表面的压力; x_i 为 i 方向; μ 为流体的粘度, 灌注培养基粘度通过旋转粘度计测得, $\mu = 0.0018 \text{ Pa} \cdot \text{s}$; F 为外力作用, 此处考虑重力因素的影响, F 为载体中流体的重量 G 。

1.4.2 求解边界条件设定

边界条件包括进口速度、压力出口和对称边界设定。

入口速度 v 根据以下公式计算:

$$v = \frac{Q}{\pi (D/2)^2} \quad (2)$$

式中: v 为入口速度; Q 为灌注流速(即流量); D 为灌注时入口直径(3.5 mm)。

可以计算出当灌注速度为 3 ml/min、6 ml/min 及 9 ml/min 时, 入口速度分别为 5.2 mm/s, 10.4 mm/s 以及 15.6 mm/s。

实验中所用的多孔 β -TCP 载体材料内部孔之间具有良好的孔连接, 因此压力出口设定为载体材料的外表面, 包括上面、下面以及外侧壁面。

二维模型右侧面即整个载体材料的中轴线, 满足对称边界条件, 载体内部区域各边界满足壁面条件, 即 $v_x = v_y = v_z = 0$ 。

1.4.3 其它求解条件

采用定常分析(又称稳态分析)。湍流模型的选择主要取决于流体的雷诺数, 雷诺数小, 意味着流体流动时各质点间的粘性力占主要地位, 流体各质点平行于管路内壁有规则地流动, 呈层流流动状态; 雷诺数大, 意味着惯性力占主要地位, 流体呈紊流流动状态。一般管道雷诺数 $Re < 2000$ 为层流状态, $Re > 4000$ 为紊流状态, $Re = 2000 \sim 4000$ 为过渡状态。在不同的流动状态下, 流体的运动规律及流速的分布等都是不同的, 因此雷诺数的大小决定了粘性流体的流动特性。而雷诺数 Re 可以根据下面公式计算:

$$Re = \frac{\rho v l}{\mu} \quad (3)$$

式中: Re 为流体的雷诺数; ρ 为流体的密度, $\rho = 1 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$; μ 为流体的粘度, $\mu = 0.0018 \text{ Pa} \cdot \text{s}$; v 为流体的速度; l 为流动管径, 在此我们认为 l 为 β -TCP 载体材料的孔直径 500 μm 。

因为根据公式计算的培养基的雷诺数远远小于 2000, 所以在此采用层流模型。操作条件: 由于载体竖直悬于培养基中, 载体较大, 高度为 30 mm, 在其入口与下面出口间存在较高的培养基液柱, 因此要考虑重力因素对于流场的影响, 即在本研究中模拟了重力作用产生的静水压对于载体中流场的影响。

1.5 模型求解与后处理

将 ANSYS11.0 生成的网格、求解方程、流体参数、边界条件等输入到计算机中, 建立 CFD 的有限体积模型后, 模型上各个点速度满足 N-S 方程, 通过 FLUENT6.1 软件包求解载体内部界面各个点的 N-S 方程, 可得到球形流道速度场并计算出载体内部不同部位的流体剪切应力大小。

培养基假定为牛顿流体, 则剪切应力等于速度场梯度乘培养基动力粘度^[7], 即

$$\tau = \nu \left(\frac{1}{2} \right) (\nabla U + \nabla U^T) \quad (4)$$

式中: τ 为流体的剪切应力分量; ν 为流体的动力粘度; U 为速度矢量; U^T 为不同时间的速度矢量。

因为本研究中载体材料较大, 载体中的速度场以及流体剪切应力大小分布有差异, 所以我们对载体进行了分区(图 5), 以便于详细分析。

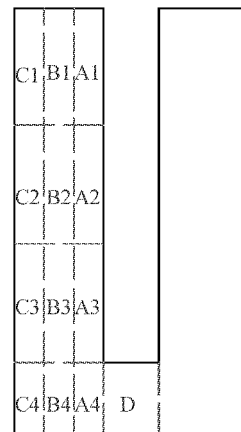


图5 载体材料的分区示意图

Fig.5 Zonation of the porous scaffold

2 结果

2.1 不同灌注速度条件下载体材料中的静水压分布及速度分布

在灌注速度为 3 ml/min 的条件下,载体材料内的静水压力场分布及载体内流速场分布如图 5 所示,6 ml/min 及 9 ml/min 灌注速度条件下的静水压力场及载体的流速场分布与 3 ml/min 者相近。载体材料各个不同区域内的平均流速的结果如图 6 所示。可见流速分布在 A1 区及 D 区较大,而在 C4 区较小,其它区域流速较为一致。因此我们选取 A2-C3 这 10 个区域进行分析,取这 10 个区域内流速的平均值作为该灌注速度条件下载体内流体的流速,如表 1 所示,3 ml/min,6 ml/min 及 9 ml/min 灌注速度条件下载体内流速值分别为 0.227 mm/s、0.459 mm/s 以及 0.701 mm/s。

表 1 三种不同灌注速度条件下载体材料内主要区域的平均流速 (mm/s)

Tab.1 Mean velocity of different zones with in the scaffold at different flow rates

区域	灌注速度		
	3 ml/min	6 ml/min	9 ml/min
A2	0.239	0.48	0.734
A3	0.272	0.55	0.843
A4	0.306	0.62	0.951
B1	0.227	0.46	0.695
B2	0.228	0.46	0.702
B3	0.231	0.47	0.717
B4	0.172	0.35	0.533
C1	0.166	0.33	0.506
C2	0.244	0.49	0.75
C3	0.186	0.38	0.574
Mean	0.227	0.459	0.701

如图 7 所示,可见剪切应力结果与流速结果存在正比关系。在 A1 区及 D 区剪力较大,而在 C4 区较小,其它区域较为一致。因此我们同样选取 A2 ~ C3 这 10 个区域进行分析,取这 10 个区域内载体材料内壁面的流体剪切应力平均值作为该灌注速度条件下载体内壁面的流体剪切应力,如表 2 所示。3 ml/min,6 ml/min 及 9 ml/min 灌注速度条件下载体内的流体剪切应力值分别为 0.0052 Pa、0.0106 Pa 以及 0.0162 Pa。

图 6 灌注速度为 3 ml/min 时多孔 β -TCP 载体材料内的静水压力场分布 (Pa) 及速度分布 (mm/s)

Fig.6 Local static pressure field (Pa) and velocity flow field (mm/s) within the porous scaffold at perfusion flow rate of 3 ml/min

2.2 不同灌注速度条件下载体材料中的流体剪切应力分布

在灌注速度为 3 ml/min 的条件下,载体材料内壁面的流体剪切应力场分布如图 5 所示,6 ml/min 及 9 ml/min 灌注速度条件下的静水压力场及载体的壁面流体剪切应力场分布与 3 ml/min 者相近。载体材料各个不同区域内的平均流体剪切应力结果

图 7 灌注速度为 3 ml/min 时多孔 β -TCP 载体材料内的剪切应力分布 (Pa)

Fig.7 Local wall shear stress within the porous scaffold at perfusion flow rate of 3 ml/min

表2 三种不同灌注速度条件下载体材料内部主要区域的平均剪切应力(Pa)

Tab.2 Mean flow shear stress of different zones within the scaffold at different flow rate

区域	灌注速度		
	3 ml/min	6 ml/min	9 ml/min
A2	0.0068	0.0138	0.0210
A3	0.0067	0.0136	0.0207
A4	0.0055	0.0111	0.0170
B1	0.0056	0.0113	0.0171
B2	0.0054	0.0109	0.0165
B3	0.0048	0.0097	0.0147
B4	0.0040	0.0082	0.0125
C1	0.0038	0.0078	0.0118
C2	0.0058	0.0118	0.0178
C3	0.0040	0.0082	0.0125
Mean	0.0052	0.0106	0.0162

3 讨论

近年来,随着组织工程技术的发展,为提高体外培养过程中三维载体材料中细胞的存活,各种各样的灌注式生物反应器系统得到了广泛的应用。在这些不同的灌注培养系统中,不同灌注速度对于细胞增殖、分化以及细胞外基质成分沉积的影响多有报道,但是因为这些灌注培养系统的结构组成不同,所用的三维载体结构也不同,所以即使使用相同的灌注速度,在这些灌注培养系统中细胞受到的流体剪切应力也各不相同。为此,在利用灌注式生物反应器对细胞进行动态灌注培养时,有必要探讨一种计算方法,以求根据灌注速度、三维载体材料的几何形状、显微结构以及一定的边界条件直接计算载体材料中细胞受到的流体剪切应力的大小。

Wang等^[12]利用基于Darcy定律的多孔介质模型计算三维胶原载体内部的流体剪切应力,由于模型过于简化,导致其不能计算载体特定部位的流体剪切应力大小,而且所计算的整个载体内的平均流体剪切应力结果也偏大。Porter等^[13]使用 μ CT数据实现了载体计算机模型的三维重建,该法适用于结构可控的载体,而对于随机结构的载体,则无法避免体外实验中存在的误差。我们首先建立了 β -TCP载体随机孔隙结构的有限元模型,将球状孔隙的三

维连通方式映射到二维,控制指标为孔径、孔连通径及孔隙率,建立随机孔隙结构;然后将ANSYS设计生成的网格、求解方程、流体参数、边界条件等输入到计算机中,建立CFD的三维有限体积模型,利用FLUENT软件包进行三维载体材料内流场的模拟分析。

Sikavitsas等^[9]计算的三维动态培养条件下载体内的流体剪切应力大小为 0.05 dyne/cm^2 ,他们认为在三维培养条件下 0.1 dyne/cm^2 水平的剪力就足以促进矿化基质成分的沉积。Reich等^[14]采用二维流动腔模型实验研究表明: $0.5 \sim 1.5 \text{ Pa}$ 的剪切应力影响成骨细胞功能,包括细胞的增殖及碱性磷酸酶、PGE2的产生。Raimondi等^[15]采用商业有限元模型估算透明质酸载体内软骨细胞受到的流体剪切应力为 $3 \times 10^{-3} \text{ Pa}$ 。Porter等^[13]利用Lattice-Boltzmann方法模拟三维载体中的流场,认为: $5 \times 10^{-5} \text{ Pa}$ 的剪切应力使细胞增殖最快,随着流体剪切应力的增加,成骨分化基因的表达相应增加,而 0.057 Pa 的流体剪切应力将导致载体材料内成骨细胞的数量减少。本研究中计算的 3 ml/min , 6 ml/min 及 9 ml/min 灌注速度条件下载体内主要区域流速值分别为 0.227 mm/s , 0.459 mm/s 以及 0.701 mm/s ,流体剪切应力值分别为 0.0052 Pa , 0.0106 Pa 以及 0.0162 Pa 。这一结果与以往三维载体材料中流体剪切应力的研究结果相近,但是远远低于二维流动腔模型培养条件下对成骨细胞具有刺激作用的剪切应力值($0.5 \sim 1.5 \text{ Pa}$)^[14]以及体内生理载荷条件下细胞受到的剪切应力值($8 \sim 30 \text{ dyne/cm}^2$)^[16, 17]。Porter等^[13]认为这主要由于以下几点原因:首先二维流动腔模型多是对已经融合或者接近融合的单层细胞进行研究,而三维流体分析模型则适用于细胞未融合状态下的流体剪切应力分析;其次,二维流动腔模型研究多为数小时的短期培养,而三维研究实验多为数天或者数周的长期培养,由于随着培养时间的增加,细胞在载体材料内增殖分化改变材料内的空间结构,必然导致载体内流体剪切应力的增加;最后,尽管在三维动态培养过程中主要研究的是流体剪切应力对细胞增殖分化的影响,但是必须考虑到流体流动对于营养物质以及代谢产物运输的影响,在二维培养以及三维培养条件下这种影响作用存在差异。

在以往对成骨细胞或者hMSCs三维动态培养

的研究中,流速变化很大,从 0.001 ml/min 到 3 ml/min 之间都有报道^[7, 10],而我们研究中所采用的流速是 3 ml/min ~ 9 ml/min,这是由于在灌注培养过程中所用的载体材料类型、载体的几何外形以及显微结构等不同所致,而这些因素均可以影响载体材料内流体剪切应力的分布。因此单独报道流速对于细胞的影响不能对不同灌注实验之间的研究结果的差异进行比较。我们在此利用 CFD 方法模拟灌注式生物反应器中大段多孔 β -TCP 载体内的流场分布,并计算了不同灌注速度条件下载体内流体剪切应力的分布,为以后研究不同几何形状,不同显微结构载体材料内流体剪切应力以及不同灌注速度条件下载体材料内流体剪切应力提供了一种新的方法。利用这种计算方法不仅可以将在不同灌注系统条件下的研究结果进行比较,而且还可以进一步根据体外细胞实验结果对灌注条件、载体结构进行优化处理。今后我们要在本研究的基础上进一步建立支架载体三维几何形态及其显微结构与载体内部不同部位剪力分布之间的函数关系,以便能够根据载体内适于细胞增殖分化的流体剪切应力大小直接推算所需载体的显微结构参数,包括孔隙率、孔径大小以及孔连通径大小等,这对于将来定制型大节段载体的加工以及载体显微结构的优化都具有广阔的应用前景。

4 结论

通过研究三维动态培养条件下大段多孔 β -TCP 载体上的流场分布以及对剪切应力的计算,得到以下结论:

1) 利用 CFD 方法可以很好的模拟三维多孔载体材料内的流场分布,并可以对载体材料内部的流体剪切应力进行计算。

2) 在我们的灌注体系中,3 ml/min,6 ml/min 及 9 ml/min 灌注速度条件下载体内主要区域流速值分别为 0.227 mm/s、0.459 mm/s 以及 0.701 mm/s,流体剪切应力值分别为 0.0052 Pa、0.0106 Pa 以及 0.0162 Pa。

3) 利用该模型可以对不同灌注培养系统及不同显微结构载体内的流体剪切应力加以比较,并可以根据流体剪切应力的计算结果选择有利于细胞增殖或分化的灌注速度。

参考文献:

- [1] Martin I, Obradovic B, Freed LE, et al. Method for quantitative analysis of glycosaminoglycan distribution in cultured natural and engineered cartilage [J]. *Ann Biomed Eng*, 1999,27:656-662.
- [2] Ishaug SL, Crane GM, Miller MJ, et al. Bone formation by three-dimensional stromal osteoblast culture in biodegradable polymer scaffolds [J]. *J Biomed Mater Res*, 1997,36:17-28.
- [3] Xie GH, Cui Z, Yu J, et al. Identification of nif genes in N2-fixing bacterial strains isolated from rice fields along the Yangtze River Plain [J]. *J Basic Microbiol*, 2006,46:56-63.
- [4] Klein-Nulend J, van der Plas A, Semeins CM, et al. Sensitivity of osteocytes to biomechanical stress in vitro [J]. *Faseb J*, 1995,9:441-445.
- [5] Owan I, Burr DB, Turner CH, et al. Mechanotransduction in bone: osteoblasts are more responsive to fluid forces than mechanical strain [J]. *Am J Physiol*, 1997,273:C810-815.
- [6] Smalt R, Mitchell FT, Howard RL, et al. Induction of NO and prostaglandin E2 in osteoblasts by wall-shear stress but not mechanical strain [J]. *Am J Physiol*, 1997,273:E751-758.
- [7] Bancroft GN, Sikavitsas VI, van den Dolder J, et al. Fluid flow increases mineralized matrix deposition in 3D perfusion culture of marrow stromal osteoblasts in a dose-dependent manner [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002,99:12600-12605.
- [8] Goldstein AS, Juarez TM, Helmke CD, et al. Effect of convection on osteoblastic cell growth and function in biodegradable polymer foam scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2001,22:1279-1288.
- [9] Sikavitsas VI, Bancroft GN, Holtorf HL, et al. Mineralized matrix deposition by marrow stromal osteoblasts in 3D perfusion culture increases with increasing fluid shear forces [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003,100:14683-14688.
- [10] Cartmell SH, Porter BD, Garcia AJ, et al. Effects of medium perfusion rate on cell-seeded three-dimensional bone constructs in vitro [J]. *Tissue Eng*, 2003,9:1197-1203.
- [11] 谢幼专,徐尚龙,卢建熙等. 柱状多孔磷酸三钙载体内细胞增殖与流场变化的研究[J], *医用生物力学*, 2008,1:52-56.

(下转第 33 页)