

β -TCP 支架体外构建组织工程骨及其流体力学研究*

徐尚龙¹⁾ 李涤尘¹⁾ 谢幼专²⁾ 卢建熙^{2,3)**} 卢秉恒¹⁾

朱振安²⁾ 汤亭亭²⁾ 戴尅戎²⁾ 王 臻⁴⁾

¹⁾ 西安交通大学机械制造系统工程国家重点实验室, 西安 710049;

²⁾ 上海交通大学附属第九人民医院骨科, 上海 200011;

³⁾ *Laboratory of Biomaterials and Biotechnologies (LR2B), Littoral University, Marseille, France;*

⁴⁾ 第四军医大学附属西京医院骨科, 西安 710032)

摘要 骨髓基质干细胞在 β -tricalcium phosphate (β -TCP) 支架上分别进行了 1、2 和 4 周的三维动态培养, 对支架上不同时间和部位的细胞面积 / 微孔面积及支架动态培养的流体环境进行了研究. 研究表明, 第 1 周细胞在支架大部分孔道内粘附生长并出现一定区域的单细胞层和多细胞层, 第 2 周部分区域的部分孔道已填满了细胞并出现多细胞层, 第 4 周大部分孔道几乎填满了细胞, 主管道内壁出现了较多的细胞生长. 同时发现, 支架上各个区域细胞粘附面积不等, 部分区域无细胞存在, 有的部位 2 周后细胞逐渐减少. 为了研究支架各个位置细胞增殖与流速、剪切应力的关系, 建立了支架随机孔道结构的流体分析模型, 通过支架上流速和剪切应力分布探讨实验中细胞分布现象的机理. 结合计算和实验发现, 流体能流到的部位几乎都有细胞生长, 细胞生长较快的部位速度大多集中在 0.24~0.53 mm/s, 剪切力大多在 0.0050~0.023 Pa, 主管道底部及靠近进口的部位可能存在由于过大的剪切力影响细胞生长的区域. 上述结果在一定程度上反映了细胞 - 支架 - 流体三者在成骨转化过程中的作用, 对指导体外灌注培养的流量确定、灌注工艺及骨转化动力学研究有重要的意义.

关键词 支架, 流体剪切应力, 动态细胞培养, 计算流体力学, 生物反应器, 骨髓基质干细胞

学科分类号 Q813.11

目前开发了许多生物反应器用于细胞 - 支架的体外培养, 以保证细胞获得充足的养分和合理的剪切应力^[1]. 充足的养分是细胞连续生长的前提, 合理的剪切应力有利于维持细胞正常的功能和较快的生长速度^[2~5]. 各种细胞对剪切应力刺激反应不一致^[6], 适合骨髓基质干细胞生长的流场环境的研究目前尚无公开报道, 目前研究三维动态培养条件下细胞分化, 主要在细胞与支架作用和细胞生长现象两方面, 一些学者研究细胞生长的微流体环境主要在于细胞生长和灌注流量之间的关系^[7], 但至今尚无通过宏观视场反映细胞在支架上的分布部位以及各个部位的细胞生长速度和剪切应力关系的研究.

本文采用自行设计的三维灌注培养系统对骨髓基质干细胞在 β -TCP 支架上分布进行 1、2 和 4 周的动态培养, 对支架上不同时间和部位的细胞覆盖面积和细胞面积 / 微孔面积进行了统计研究, 并从

统计学意义上建立了含随机孔道结构的 β -TCP 支架流体分析模型以解释支架上不同部位生长现象, 利用计算流体力学 (CFD) 进行支架流动分析以得出有利于细胞生长的最佳流速和剪切应力.

1 材料与方法

1.1 实验方法

1.1.1 β -TCP 支架及动态培养系统. β -TCP 支架为含中心管道的圆柱体, 中心管道直径 3.5 mm, 长 25 mm, 支架直径 14 mm, 总长 30 mm. 孔径 (530 ± 100) μm , 内连接径 (150 ± 50) μm , 孔隙率

*国家自然科学基金资助项目(50235020)和国际科技合作重点项目(2005DFA30120).

** 通讯联系人. Tel: 33-0321892029, E-mail: irzbberck@hopale.com

收稿日期: 2006-03-21, 接受日期: 2006-04-30

约 75%，由上海贝奥路生物材料有限公司提供。三维细胞动态培养系统由蠕动泵、三通阀、硅胶管和容器几部分构成，蠕动泵可驱动 8 个泵头 (ISMATEC IP 65, Switzerland)，即可连接 8 根硅胶管，容器由 75 cm² 培养瓶改制成，用于盛放培养液，支架浸没于培养液中并悬浮，培养液由支架中心管道进入，瓶盖含两个孔均与硅胶管连接，三通阀用于换液并防止污染。图 1 为该三维动态培养系统示意。

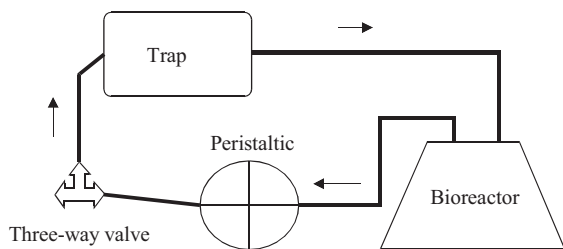


Fig. 1 Perfusion system sketch

1.1.2 骨髓基质干细胞 (BMSCs) 细胞培养与扩增。

抽取羊骨髓 30 ml (含肝素 100 U/ml) 与 20 ml α -MEM 培养基混合后接种至 T75 细胞培养瓶内，加入含 10% 胎牛血清、2 mmol/L L-谷氨酰胺、100 U/ml 青霉素、100 mg/L 链霉素的 20 ml α -MEM 培养基，于 37℃ 的 5% CO₂ 培养箱中培养。24 h 后换液去除未粘附的细胞，粘附细胞主要是骨髓基质干细胞。当细胞融合时用 0.1% 胰蛋白酶消化传代。第三代细胞用于接种 β -TCP 支架。将第三代细胞制作成 2×10^6 /ml 的细胞悬液，将支架放入细胞悬液中通过抽真空的方式接种细胞悬液，2 h 后将支架放入培养容器中，再过 2 h 启动蠕动泵。培养液灌注流量为 3 ml/min，每 2 天更换一次培养液，分别进行 7 天、14 天和 28 天的动态培养，为了避免实验中的偶然误差，每期均取 6 个标本。

1.1.3 葡萄糖消耗量及细胞活性测定。

细胞数量采用葡萄糖消耗量表达，更换培养液时，收集废弃的培养液，介质中葡萄糖测定 (D-葡萄糖 UV-方法，罗氏公司)，通过计算吸光率差异来计算葡萄糖浓度。以介质中平均每天葡萄糖减少作为葡萄糖消耗量。

细胞增殖常用细胞活性表达，应用最广的是 MTT 实验。将支架沿着中心线切开，其中一半用 70% 酒精固定用于组织学观察，将另一半用 PBS

液冲洗放于培养板中，分成几个小块加入 6 ml MTT (0.5 g/L) 溶液，在 37℃ 的 5% CO₂ 培养箱中孵育 4 h，吸出 MTT 溶液后，加入 5 ml 0.01 mol/L HCl 的盐酸异丙醇溶液洗脱，采用分光光度计读取吸光值，再将支架 50℃ 干燥称重，以每克支架的吸光值来表达细胞活性。

1.1.4 不脱钙硬组织切片观察。 支架用 70% 酒精固定 10 天后梯度脱水，甲苯透明，甲基丙烯酸甲酯包埋，用 Leitz SP 1600 硬组织切片机 (Wetzlar, 德国) 沿着圆柱体中心线切片，初始厚度为 200 μ m 切片，采用 Exakt 研磨机 (Norderstedt, 德国) 制作成 50 μ m 厚的磨片，用 May-Grünwald 吉姆萨染液进行组织染色，在光学显微镜观察支架内细胞增殖分布情况，在低倍镜下照相，然后将各个视野图像拼合，形成细胞在支架上分布和覆盖的整体图，细胞覆盖面积通过图像处理软件 Image J 计算，同时可得出细胞面积 / 孔隙面积。

1.1.5 图像处理与统计分析。 通过 Photoshop 7.0 对显微镜图片进行像素及区域分割处理，然后输入 Image J 进行二值化并计算代表细胞的颜色所占比例。每个数据点对应 6 个独立的数据，取平均值即为所需数据，数据处理采用方差分析， $P < 0.05$ 认为具有统计学意义。

1.2 数值模型及研究

1.2.1 流体分析模型的建立与边界条件。

首先建立支架孔道的几何结构模型，假定细胞对流场无影响，即建立细胞培养的第 1, 2 周的流体分析模型，由于支架孔隙结构是随机的，体外培养实验研究的 6 个支架结构也是随机的，因此流体分析模型无法控制。建立小球随机排列的二维模型结构，该模型关于轴对称，如图 2，其控制指标为孔径 (约 500 μ m)、内连接径 (约 150 μ m) 和孔隙率 (约 75%)，并对其进行流场分析，取各个区域剪切应力和流速分布的主要范围，与细胞覆盖面积和覆盖百分比对照，以得出生长速度最快的区域的流速和剪切应力。

假定流体为均匀、黏性、不可压缩的牛顿流体，入口流速均匀^[6]，根据以上假设得到的物理平面上的 N-S 方程及连续方程分别为

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

$$\frac{\partial u_i}{\partial x_j} = 0 \quad i = 1, 2 \quad j = 1, 2 \quad (2)$$

其中， P 为压力， μ 为液体黏度， ρ 为流体密度， u_i , u_j 分别为 i 及 j 方向的速度分量。该动态培

养条件下流体雷诺数很小, 满足 N-S 方程.

泵管内径 2.5 mm, 进口速度 $v = Q/A = 10.2 \text{ mm/s}$, 其中 A 为流体进口面积. 流体密度 $\rho = 1 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$, 培养液黏度通过旋转黏度计测得 $\mu = 0.0018 \text{ Pa}\cdot\text{s}$. 将流速均匀加在主管道入口边界, 由于浸入培养液中支架内孔道连通, 因此重力作用可以忽略, 出口压力即可假定均为 0, 右侧面满足对称边界条件, 中间区域各边界满足壁面条件, 即 $v_x = v_y = v_z = 0$.

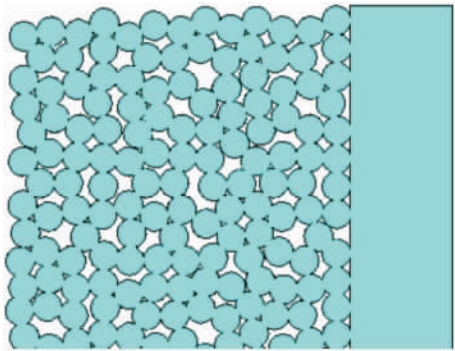


Fig. 2 β -TCP scaffold pore structure sketch

1.2.2 模型求解与后处理.

建立 CFD 的有限元模型后, 模型上各个点速度满足 N-S 方程, 通过求解各个点 N-S 方程可得到球形流道速度场.

培养液假定为牛顿流体, 剪切应力等于速度场梯度乘培养液动力黏度^[7], 即

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

(3)

其中, τ 为剪切应力分量, ν 为动力黏度, U 为速度矢量.

为了得出各个位置速度和剪切应力, 分别选取需要分析的各个区 (和分析支架上细胞覆盖面积相一致), 显示速度和剪切应力等值线, 并调整边界值, 找出细胞生长速度最快的区域速度和剪切应力等值线分布的范围, 将此定义为最有利于细胞生长的速度和剪切应力.

2 结果与分析

2.1 三维动态培养条件下细胞生长情况

通过光学显微镜获取各个分区的显微图像, 再将这些图像拼合形成整体图, β -TCP 支架上各个部位细胞覆盖情况可以直观地看出, 图 3 为其中一张图片. 为了量化各个时间段和支架各个部位细胞分布和生长情况, 通过图像处理软件 Image J 对切片

进行二值化并计算中心截面各个部分比例, 计算如图 4 所示的各个分区内细胞覆盖面积和细胞面积 / 孔隙面积, 标本区域划分是以细胞分布特征和与静态组比较为依据. 一方面反映细胞随时间的生长速度, 另一方面反映结构与细胞生长的关系, 为进一步分析各个部位细胞生长速度不同的流体力学机理提供验证.



Fig. 3 Cell distribution throughout the scaffold after 14 days of culture

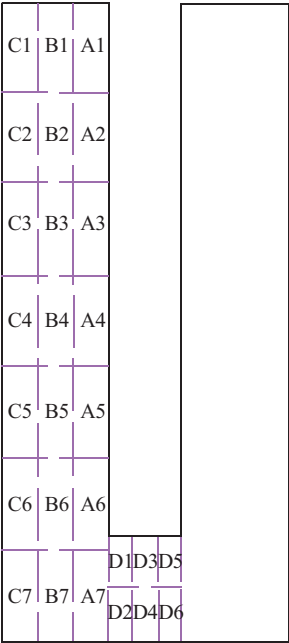


Fig. 4 Specimen analysis area

图 3 和图 5 可以看出, 培养 1 周, 大部分区域均有细胞进入, 细胞大多呈单层排列, 部分区域粘附细胞增殖较快, 呈现多层排列, 细胞面积 / 孔隙

面积从 C7 的(2.4 ± 0.6) %到 C3 的 (22.2 ± 6.2) %。培养 2 周后, 部分孔道已填满了细胞并出现多细胞层, 细胞在孔道中生长速度不均匀, 因此出现各个区域内细胞覆盖面积不等, 细胞生长快的部位养分供给充分, 培养液能得到及时交换, 且受到合理剪切应力的刺激, 细胞面积 / 孔隙面积从 A7 的 (24.7 ± 1.5) %到 A3 的 (50.6 ± 7.0) %。培养 4 周后, 大部分孔道被细胞填满, 细胞面积 / 孔隙面积从 C7 的(23.2 ± 3.2) %到 A3 的 (68.4 ± 6.5) %, 一些部位出现细胞覆盖面积下降的现象, 主管道内骨基质继续增加, 甚至在有的部位横搭起了“桥梁”。总之, 细胞生长主要和是否有充分的养分供给及是否有合适的微流体环境两方面有关。

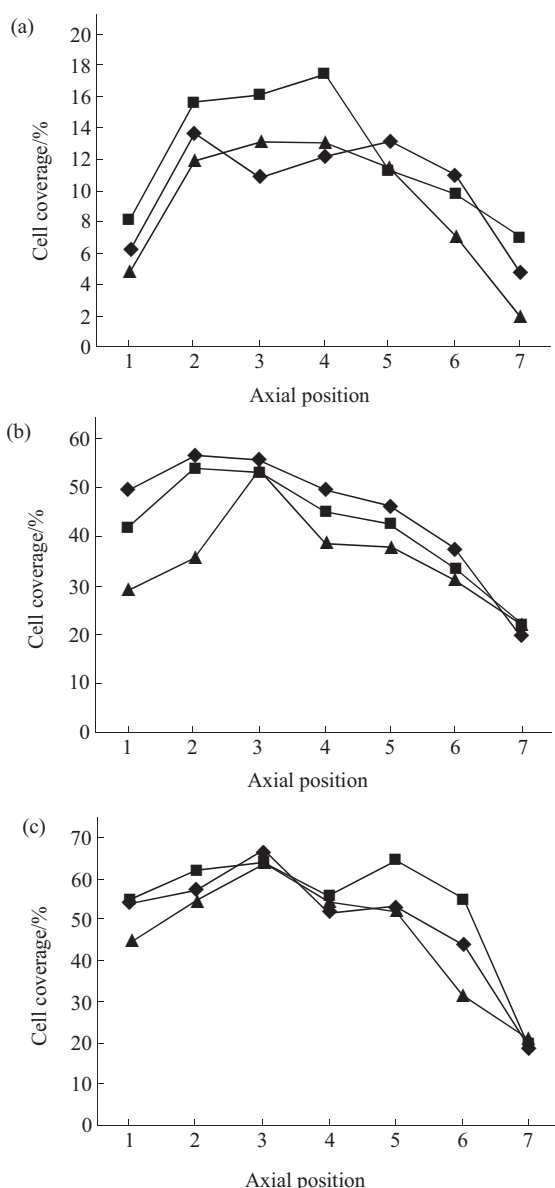


Fig. 5 Cell coverage throughout the scaffold

(a) 7 days. (b) 14 days. (c) 28 days. ◆—◆: A; ■—■: B; ▲—▲: C.

标本左右两部分对称, 细胞覆盖面积和百分比从统计上无明显的差别. D 区细胞生长情况随着时间的变化有较大的变化, 灌注培养 1 周, D3 区细胞比两侧多, 培养 2 周后 D3 区细胞比两侧有更进一步的增多, 但第 4 周的标准发现 D3 区细胞覆盖面积有所下降, 从(46.3 ± 3.2) %到(44.3 ± 3.6) %, 该部位存在细胞减少的现象, 从主管道底部细胞粘附生长情况分析, 第 4 周主管道底部出现较厚的细胞层, 堵塞了 D3 区的部分孔道培养液, 流体流动方向发生改变, 从主管道侧面进入. C1 和 C7 区的外侧存在流体不能到达的位置, 一部分区域的细胞近似于静态培养条件生长.

在未因为细胞生长使结构发生改变的第 1、2 周, A3、A4 区细胞覆盖面积和细胞占据孔隙的比例较大, 细胞生长也很快, 分别增长约 38.2%、34.8%. 第 4 周出现细胞层改变流道使其余部分区域细胞明显增加. 细胞生长将导致支架内连通流道结构和大小的变化, 细胞生长的微流体环境亦随着细胞生长发生变化, 内外流体环境(如边界流体压力, 流体剪切应力等)影响细胞在支架各个部位生长^[9]. 同时由于动态细胞培养时, 支架内部孔隙和流体边界条件不同, 各个部位流场亦不同. 因此, 有必要研究孔道内流场, 以验证细胞在支架各个部位生长现象.

2.2 流速与剪切应力分布

由于统计细胞覆盖面积是通过取含不同随机孔道结构的支架上对应区域的平均值, 因此, 采用 CFD 分别模拟结构流场结果亦建立随机模型, 从统计学意义上研究各个位置细胞生长与流场的关系.

结构孔道部分速度分布如图 6, 剪切应力见图 7. 由于支架内部球形流道内流场难以反映, 提取各个支架内细胞生长较快的几个区域速度和剪切应力等值线主要范围, 各个区域内流速和剪切应力见表 1.

支架内流速分布很不均匀, 在 A1 区内靠近主管道进口位置及 D3 区的细胞受到较大的流体剪切应力, 可能存在超过细胞生理剪切力的区域. 而 C1 左上角区域和 C7 左下角区域几乎无流动流体, 细胞生长类似静态培养方式. 沿着主管道往下, 流速逐渐减小, 另外, 孔道连接处流速和剪切应力通常较高, 由于流动区域更狭窄. 流速和剪切应力分布较均匀的区域为 A2、A3 和 B2, 养分供给最充分的区域为 A1. 细胞生长最快的 A3、A4 区流速和剪

切应力等值线发现, 速度大多集中在 $0.24 \sim 0.53 \text{ mm/s}$, 剪切力大多在 $0.0050 \sim 0.023 \text{ Pa}$, 这意味着这些区域的流速和剪切应力环境有利于骨髓基质干细胞生长. 同时发现流体能够流到的部位一般有细胞的生长. 支架的优化设计和确定最佳进口流量的目的, 在于保证尽可能大范围细胞所处的微流体环境接近生理环境.

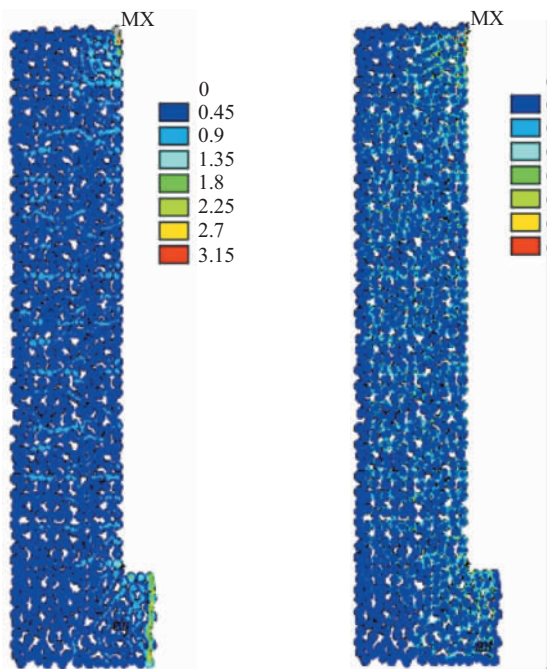


Fig. 6 Velocity field
in pores (mm/s)

Fig. 7 Shear stress
in pores (Pa)

Table 1 Cell growth rate between 7 days and 14 days and fluid speed and shear stress in region of rapid cell growth

	Cell growth	Speed/(mm·s ⁻¹)	Shear stress/Pa
A1	33.3%	0.14~0.70	0.004 6~0.028 0
A2	29.2%	0.29~0.60	0.005 9~0.025 0
A3	38.2%	0.26~0.53	0.005 5~0.023 0
A4	34.8%	0.24~0.52	0.005 5~0.021 0
B1	30.9%	0.18~0.53	0.005 1~0.022 0
B2	29.5%	0.19~0.47	0.005 0~0.020 0
B3	31.7%	0.20~0.50	0.004 9~0.019 0
B4	29.3%	0.18~0.52	0.005 1~0.018 0
C2	29.0%	0.18~0.49	0.004 7~0.017 0

3 讨 论

为了研究 β -TCP 支架内骨髓基质干细胞分化及其流场机理, 首先要通过图像反映细胞生长与结

构的关系, 即直观看出支架各个部位对应的细胞数量和细胞覆盖面积, 采用光学显微镜观察细胞 - 支架的硬组织切片, 细胞经过蓝染在光镜下能和材料基底区分, 且视野较大, 将 12 个视野拼合得出了细胞整体分布图, 便于通过统计学方法对结构与细胞生长的关系定量. 目前研究支架内细胞分布位置均限于小视野, 而无宏观视场的讨论^[59]. 另一方面, 细胞生长与流体环境密切相关, 本文通过 CFD 洞察不同部位分布的细胞数量和面积不同的流体力学机理, 深入探讨了结构 - 细胞生长 - 流场三者的关系.

对于 β -TCP 支架的随机孔隙结构的有限元模型的建立, 将小球三维连通方式映射到二维, 建立随机孔隙结构, 其控制指标为孔径、内连接径及孔隙率, 然后计算结果与支架体外培养的细胞生长分析一致, 从统计学意义上研究流场与细胞生长的关系. 国外对建立支架计算机模型常常使用 μ CT 数据三维重构^[7], 该方法适用于结构可控的支架, 对于随机结构的支架, 该方法无法避免体外实验中存在的偶然误差.

Reich 和 Frangos 等^[10]采用二维流动实验研究表明, $0.5 \sim 1.5 \text{ Pa}$ 的剪切应力影响成骨细胞功能, 包括分裂及碱性磷酸酶, PGE_2 的产生. Portera 等^[7]采用三维流体分析模型研究发现, 0.057 Pa 的剪切应力将导致成骨细胞的死亡, $5 \times 10^{-5} \text{ Pa}$ 的剪切应力使细胞增殖最快. 人体血液对血管内皮细胞的生理剪切应力平均为 $0 \sim 10 \text{ Pa}$. 本文结合体外灌注实验与流体分析结果表明, 骨髓基质干细胞生长最快的区域流速大多在 $0.24 \sim 0.53 \text{ mm/s}$, 剪切应力大多在 $0.005 0 \sim 0.023 \text{ Pa}$ 的部位细胞生长较快, 因此, 本文的研究结果介于二维流动实验研究和三维流体分析结果之间, 该结论对于预测细胞生长情况, 支架结构合理性及生物反应器系统输入流量有重要的指导意义.

4 结 论

通过研究 β -TCP 支架上的骨髓基质干细胞三维动态培养条件下细胞生长及其与流场的关系, 得到以下结论:

a. 培养 1 周支架内细胞多少呈单层排列, 部分地区呈多层排列. 培养 2 周部分孔道已填满了细胞并出现多细胞层, 细胞在孔道中生长速度不均匀, 靠近表面的细胞生长较快, 中心部位细胞覆盖面积较小, 流体能到达的地方基本有细胞的生长. 培养

4周后,大部分孔道被细胞填满,随着细胞层的形成和增加,一些区域部分位置(如D3区等)由于外围细胞填满了孔隙,可能导致内部细胞无法得到营养供应逐渐减少,并且前2周细胞生长速度较第2至4周快。

b. 内外流体环境(如流体剪切应力,流速等)影响细胞在支架各个部位生长,流体能流到的部位几乎都有细胞生长.将细胞生长最快的A2、A3区和流速分布比较,并对该结构对应位置的剪切应力等值线进行分析发现,骨髓基质干细胞生长较快的区域流速主要分布在0.24~0.53 mm/s,剪切应力主要在0.0050~0.023 Pa。

c. 细胞生长将导致支架内可以连通流道结构和大小的变化,细胞生长的微流体环境亦随着细胞生长发生变化,合理的结构有利于细胞分化生长,在成骨转化中结构是动态变化的,设计有利于成骨转化的人工骨结构要考虑骨界面推移的动态过程造成的一些部位坏死的情况.将来的工作是采用移动边界条件模拟细胞生长过程,并在支架内部植入一套合理的管道系统以解决细胞分泌基质堵塞流道造成的对细胞生长的影响。

参 考 文 献

- 1 Wang Y, Uemura T, Dong J, *et al.* Application of perfusion culture system improves *in vitro* and *in vivo* osteogenesis of bone

- marrow-derived osteoblastic cells in porous ceramic materials. *Tissue Eng*, 2003, **8**: 1205~1214
- 2 Glowacki J, Mizuno S, Greenberger J S. Perfusion enhances functions of bone marrow stromal cells in three-dimensional culture. *Cell Transplant*, 1998, **7** (2): 319~326
- 3 Goldstein A S, Juarez T M, Helmke C D, *et al.* Effect of convection on osteoblastic cell growth and function in biodegradable polymer foam scaffolds. *Biomaterials*, 2001, **22** (11): 1279~1288
- 4 Lee J H, Lee S J, Khang G, *et al.* The effect of fluid shear stress on endothelial cell adhesiveness to polymer surfaces with wettability gradient. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2000, **230** (5): 84~90
- 5 Leclerc E, David B, Griscom L, *et al.* Study of osteoblastic cells in a microfluidic environment. *Biomaterials*, 2005, **7** (2): 320~332
- 6 Bercoier M, Engelman M S. A finite element for incompressible fluid flow. *Journal of Computational Physics*, 1979, **30** (3): 181~187
- 7 Portera B, Zuelb R, Stockmanc H, *et al.* 3-D computational modeling of media flow through scaffolds in a perfusion bioreactor. *Journal of Biomechanics*, 2005, **38** (6): 543~549
- 8 Lappa M. Organic tissue in rotating bioreactors: fluid-mechanical aspects, dynamic growth models, and morphological evolution. *Biotechnol Bioeng*, 2003, **34** (10): 518~532
- 9 Okuyama M, Ohta Y, Kambayashi J, *et al.* Fluid shear stress induced actin polymerization in human neutrophils. *J Cell Biochem*, 1996, **63** (8): 432~441
- 10 Reich K M, Frangos J A. Effect of flow on prostaglandin E2 and inositol trisphosphate levels in osteoblasts. *American Journal of Physiology*, 1991, **261** (3): 428~432

Study of Flow Field on *In vitro* Construction of Tissue Engineering Bone by a β -Tricalcium Phosphate Scaffold*

XU Shang-Long¹⁾, LI Di-Chen¹⁾, XIE You-Zhuan²⁾, LU Jian-Xi^{2,3)**}, LU Bing-Heng¹⁾,
ZHU Zhen-An²⁾, TANG Ting-Ting²⁾, DAI Ke-Rong²⁾, WANG Zhen⁴⁾

¹⁾State Key Laboratory of Mechanical Manufacture System Engineering, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China;

²⁾Department of Orthopaedic Surgery, Ninth People's Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200011, China;

³⁾Laboratory of Biomaterials and Biotechnologies (LR2B), Littoral University, Marseille, France;

⁴⁾Xijing Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract The massive β -tricalcium phosphate (β -TCP) scaffold with a central tunnel was impregnated with the sheep mesenchymal stem cells and were continuously perfused with the complete α -MEM medium by a peristaltic pump for 7, 14 and 28 days. Histological study showed that the cells proliferated through the whole scaffolds under dynamic culture. The cells formed a continuous monolayer or multilayer in the first 7 days and some pores in the scaffold packed with cells in 14 days. Most of pores were almost fully filled with cells after 28 days' culture. And the cell coverage were various in various spaces of the scaffold. Unoccupied spaces were found in many macropores and cell death was found in some spaces after 14 days' culture. The CFD was used to simulate the flow conditions within perfused cell-seeded cylindrical scaffolds to give insight into the mechanisms of the cell growth

phenomena. Relating the simulation results to perfusion experiments, the average fluid velocity (approximately 0.24~0.53 mm/s) and shear stress (approximately 0.0050~0.023 Pa) were found to correspond to increased cell proliferation within the cell-scaffold constructs.

Key words scaffold, fluid shear stress, dynamic cell culture, computational fluid dynamic, bioreactor, mesenchymal stem cells

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (50235020) and Key Project of International Science and Technology Cooperation (2005DFA30120).

**Corresponding author . Tel: 86-33-0321892029, E-mail: ir2bberck@hopale.com

Received: March 21, 2006 Accepted: April 30, 2006