



Dissertation Submitted to Hangzhou Dianzi University
for the Degree of Master

**Study on Low-temperature Deposition
Manufacturing of Vascular Tissue
Engineering Scaffold**

Candidate: Li Yanlei

Supervisor: Prof. Xu Mingen

December, 2010

杭州电子科技大学

学位论文原创性声明和使用授权说明

原创性声明

本人郑重声明： 所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品或成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。

申请学位论文与资料若有不实之处，本人承担一切相关责任。

论文作者签名：李艳蕾

日期：2011 年 1 月 14 日

学位论文使用授权说明

本人完全了解杭州电子科技大学关于保留和使用学位论文的规定，即：研究生在校攻读学位期间论文工作的知识产权单位属杭州电子科技大学。本人保证毕业后，发表论文或使用论文工作成果时署名单位仍然为杭州电子科技大学。学校有权保留送交论文的复印件，允许查阅和借阅论文；学校可以公布论文的全部或部分内容，可以允许采用影印、缩印或其它复制手段保存论文。（保密论文在解密后遵守此规定）

论文作者签名：李艳蕾

日期：2011 年 1 月 14 日

指导教师签名：徐铭恩

日期：2011 年 1 月 14 日

摘 要

各类心血管疾病和外伤导致的血管损伤,是威胁人类健康的重要疾病之一,血管移植是主要的临床治疗手段,替代天然/人工合成血管移植物的组织工程血管移植物(TEVG)是血管移植的方向。而实现血管支架的产业化及个性化制造,对 TEVG 进入临床应用具有重要的意义。血管的结构具有复杂和多样化的特点,而目前常用的设计和加工血管支架的方法比较简单,无法满足上述要求。本论文将快速成形技术引入这一研究领域,配合计算机辅助设计(CAD),利用低温沉积制造(LDM)工艺制作血管支架,并对支架的表观特征、物理特性和生物相容性展开研究。

论文首先从材料、设计和加工方法三个方面系统地分析了血管支架的研究现状,介绍了快速成形工艺在医学领域中的应用情况,提出通过 LDM 工艺制作传统的直圆管支架和结构较复杂的单分支血管支架及树状血管网支架。以血管的解剖学和生理学为基础,结合血流动力学理论,分析动脉分支血管血液流动的阻力分配,为血管分支形态提供了生物力学解释;以最小能量消耗为目标对血管分支形态实施优化设计;辅以计算流体力学进行分支血管内的流场仿真分析,以指导 CAD 数字模型的构建。

低温沉积制造过程实质上就是由计算机三维模型转换为数控信息,驱动成形机在低温环境下将材料堆积成形的过程。论文使用 SolidWorks 和 Aurora 分别为直圆管支架、单分支血管支架和树状分支血管网支架构建数字模型,对比实施几种成形方案,确定最佳的方式来实现支架的制造。着重对浆料丝在成形室中的冷却固化展开研究,就冷却固化时间进行了分析,以指导支架成形方案的改进。所制得的样品外形准确地再现了 SolidWorks 绘制的三维模型,壁面完整,结构连续,分支部位连接流畅,内部管道通畅,成形效果良好。

论文进一步研究了成形参数对壁厚、微孔结构和壁面粘接等支架表观特征和支架的孔隙率、水渗透性和力学性能的影响,并进行了对比实验验证。支架壁厚与螺杆转速/喷头扫描速度之值成良好线性关系,同时由于浆料丝的水平展布而与喷头温度正相关;浆料浓度和温度参数直接作用于微孔,影响其尺寸大小;浆料丝之间的粘接是一个以扩散机理为主导的熔融自粘接过程,温度参数通过对扩散时间的影响,改变壁面的形态及粘接强度。支架的孔隙率、水渗透性和力学性能与支架的表观特征直接相关,因此也可以通过改变成形参数而间接对其进行调控。另外,对支架的物理特性和生物相容性进行评测,结果显示 LDM 工艺所制

作的支架能够满足血管组织工程对于支架的要求。

关键词：组织工程，血管，支架，低温沉积制造

ABSTRACT

Cardiovascular disease remains the leading cause of threatening human healthy all over the world, and vessel transplantation is the main clinical treatment for this. Recently, the tissue-engineered vascular graft (TEVG) is considered to be the most potential vascular substitute. Since there is a clinical need for the TEVG, fabricating the vascular scaffold individually appears to be necessary. But the present methods of designing and processing vascular scaffold are too simple and crude to meet this need. In this paper, the rapid prototyping (RP) technology was employed to resolve the problem of fabricating individual scaffold. Vascular scaffold was fabricated utilizing the low-temperature deposition manufacturing (LDM), which is a novel RP technique with the assistance of computer aided design (CAD). Then the morphological characteristics, physical properties and biocompatibility of the scaffold fabricated by this approach were deeply studied.

The research status about materials, design and processing methods of vascular scaffold were introduced systematically, as well as the application of RP technology in medical domain. LDM was proposed to develop the traditional tubular scaffold, bifurcated blood vessel scaffold and vascular network scaffold. Based on the theory of vascular anatomy, physiology and hemodynamics, the resistance distribution in the bifurcated blood vessel was analyzed; the optimization design of branch vascular structure was devised with the purpose of minimal energy cost; and the blood flow simulation for branch vascular was carried out by COSMOSFloWorks software. The results of all those works were used to provide direction for CAD modeling.

LDM is essentially a forming process that the computer-aided 3D model is transformed into numerical control (NC) information to drive the LDM machine to extrude and deposit the material in low temperature environment. In order to obtain the NC information, CAD software SolidWorks was used to design the 3D models for each scaffold, and stratifying software Aurora was used to stratify the models. Among several designing and stratifying proposals, the contour line scan was proved to be the best way to form the vascular scaffold. Then the tubular scaffold model was improved according to the analysis of scaffold freezing process in low temperature environment. The forming results showed that the scaffolds reproduced the structure of 3D models

accurately; all scaffolds had integrated wall, continuous structure and unobstructed lumen.

Tubular scaffold was selected as the object to research the impacts of different process parameters on vascular scaffold morphological characteristics (including wall thickness, micropore structure and wall adhesive strength), and physical properties (including porosity, water permeability and mechanical properties). And comparative experiments were carried out for verifying the conclusion above. It was been found that wall thickness was positively correlated with the nozzle temperature, and performed great linear relationship with velocity ratio (screw speed / scanning speed); slurry concentration and temperature parameter affected the micropore structure directly and could change its size; nozzle temperature played a key role to regulate and control the wall modality and adhesive strength. Meanwhile, the scaffold porosity, water permeability and mechanical properties were related with its morphological characteristics, so could be control by all kinds of process parameters. Finally, it was been proved that vascular scaffold fabricated by LDM could meet the needs of vascular tissue engineering, according to the evaluating of scaffold physical properties and biocompatibility.

Keywords: tissue engineering, vascular, scaffold, low-temperature deposition manufacturing

目 录

摘 要	I
ABSTRACT	III
第1章 绪论	1
1.1 引言	1
1.2 组织工程血管支架的作用及要求	2
1.3 血管支架制造的国内外研究现状	3
1.3.1 血管支架的材料	3
1.3.2 血管支架的三维结构设计	4
1.3.3 血管支架的成形方法	5
1.4 快速成形技术	6
1.4.1 RP 技术原理及典型工艺	6
1.4.2 RP 技术在医学领域的应用	7
1.5 本论文的意义及主要研究内容	7
第2章 分支血管支架的结构设计研究	9
2.1 引言	9
2.2 血管解剖学及生理学分析	9
2.2.1 动脉基本特征	10
2.2.2 毛细血管基本特征	11
2.2.3 静脉基本特征	11
2.3 血流动力学分析和结构设计	11
2.3.1 动脉分支血管血液流动阻力的分配	12
2.3.2 血管分支形态的最小能耗优化设计	14
2.4 计算流体动力学分析和结构设计	17
2.5 本章小结	20
第3章 血管支架的低温沉积制造研究	22
3.1 引言	22
3.2 低温沉积制造 (LDM) 工艺简介	22
3.2.1 LDM 系统组成	22
3.2.2 LDM 工艺流程	25
3.3 直圆管支架的制作	26
3.3.1 数字模型方案设计及实施	26
3.3.2 浆料丝的冷却固化研究	28
3.4 分支血管支架的制作	32
3.5 本章小结	35
第4章 低温沉积制造的成形参数研究	36
4.1 引言	36
4.2 影响支架壁厚的成形参数研究	36
4.2.1 壁厚的表征	36
4.2.2 壁厚与速度比参数	37

4.2.3 壁厚与温度参数.....	42
4.3 影响支架微孔结构的成形参数研究.....	43
4.4 支架壁面粘接问题研究.....	45
4.4.1 浆料丝的粘接机理.....	45
4.4.2 壁面粘接与温度参数.....	45
4.5 本章小结.....	47
第5章 支架的物理特性和生物相容性研究.....	49
5.1 引言.....	49
5.2 支架孔隙率和水渗透性的表征与调控.....	49
5.2.1 表征方法.....	49
5.2.2 实验及讨论.....	51
5.3 支架力学性能的表征与调控.....	52
5.3.1 血管支架力学性能要求.....	53
5.3.2 实验及讨论.....	53
5.4 支架生物相容性研究.....	55
5.4.1 大鼠脂肪干细胞的分离和培养.....	55
5.4.2 支架预处理及细胞和支架共培养.....	56
5.4.3 CD34 免疫荧光检测.....	56
5.4.4 结果及讨论.....	56
5.5 本章小结.....	57
第6章 结论与展望.....	58
致 谢.....	60
参 考 文 献.....	61
附 录.....	64

第1章 绪论

1.1 引言

心血管疾病，如动脉粥样硬化、动脉瘤、先天性血管畸形以及外伤性血管损伤等，是威胁人类生命健康最严重的疾病之一，其主要的临床治疗方法是血管移植^[1]。目前已经应用于临床的血管移植物包括自体/异体血管和人工合成血管^[2]（图 1-1 所示），但分别因各种原因在使用中受到限制。自体动脉和自体静脉是较理想的血管移植物，但人体自身可供移植的非必需血管的来源、长度和直径范围极为有限；异体血管虽来源丰富，但存在免疫排斥反应和其他术后并发症等问题尚未解决。人工合成血管自 20 世纪 50 年代问世以来，在临床的应用中已取得明显的效果，但是在直径小于 6mm 的应用中一直因为新生内膜增生和血栓形成等，使得其近、远期的通畅率不理想^[3]；同时，人工合成血管植入儿童体内后，因其无法随着儿童的发育而生长，造成移植血管同组织不配套而需再次手术，也一直是困扰血管外科界的难题。因此，研制出一种新的血管移植物，并且克服上述移植物的缺陷就显得十分迫切。

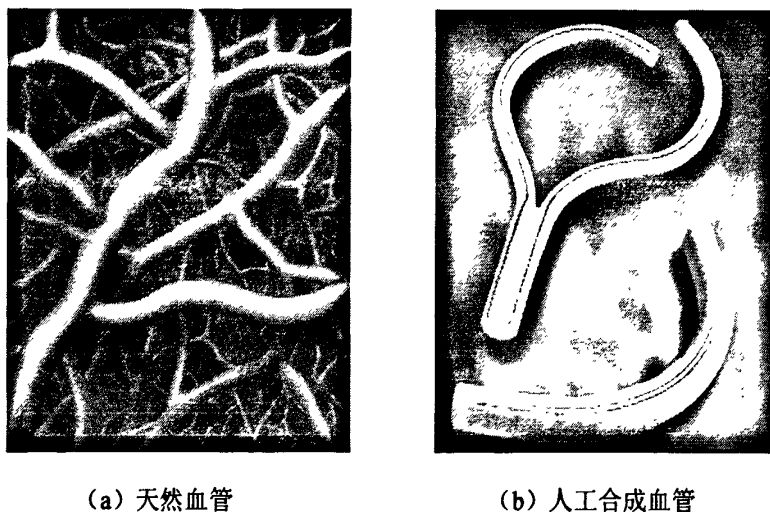


图 1-1 传统血管移植物

20 世纪 80 年代中期，组织工程的出现为血管移植物开辟了新的发展前景，组织工程化血管可能成为今后血管移植物的重要方向。组织工程学是一个跨学科的新领域，它综合了细胞生物学、工程学、材料科学和医学外科学等学科。其基本技术原理是将正常组织细胞吸附于生物相容性良好的生物材料上形成复合物，细胞-生物材料复合物通过植入人体内特定部位，或者在体外一定环境条件作用下，保持特定生理活性的细胞分泌细胞外基质构建组织结构、发挥特定生物学功能，

同时生物材料逐渐降解吸收,形成新的具有特定形态、结构和功能的相应组织、器官,达到促进组织再生、修复创伤和重建功能的目的^[1]。自诞生以来,组织工程获得了迅猛的发展,目前已经广泛应用于构建皮肤、软骨、肝脏、胰腺、骨、血液、肌肉、血管和神经等组织器官。其中,血管组织工程以研制无免疫原性,抗血栓形成、组织和细胞相容性高,具有一定强度和生长性并能广泛应用于临床的组织工程化血管^[4]为目标展开研究的。

1.2 组织工程血管支架的作用及要求

血管组织工程是利用血管壁或其他来源的细胞与细胞外基质或生物可降解材料来制备、重建和再生血管,并使再生的血管具有正常组织形态和功能的科学,其研究核心包括活的细胞、可供细胞进行生命活动的支架以及细胞与支架的相互作用^[5]。其中,血管支架作为一个过渡性的细胞载体,可以从三个层次上影响组织构造:1) 支架大小(毫米至厘米),决定组织工程血管内径和长度;2) 支架孔隙的形态结构和大小(微米),调节细胞的生长和迁移;3) 支架的表面化学性质(纳米),调节与其相接触的细胞的黏附、伸展和基因表达过程。

作为理想的支架,应该具备以下基本特征^[6-7]:

(1) 合适的几何特征及孔隙结构。几何特征由血管支架的三维结构、壁厚和松弛内径描述,人体各处血管形状变异较大,支架的几何特征需要与移植部位匹配。从生物意义上来说,孔径与排列等特性会影响细胞的黏附与生长;同时孔隙的形状应该尽量圆润,不宜有尖锐的棱角和突起,以免损伤细胞。

(2) 高孔隙率和比表面积,以便于细胞的黏附和增殖、氧和营养的供应以及代谢废物的排放。

(3) 良好的生物相容性。这主要决定于支架材料的属性,包括三个方面:血液相容性、细胞相容性和组织相容性。血液相容性是指当支架表面与血液接触时是否发生溶血或凝血而形成血栓;细胞相容性是指细胞在支架内部的粘附、伸展和增殖等功能特性,常用细胞培养方法检测;组织相容性是指植入动物体内后的宿主反应,包括毒性、热源性、刺激性和免疫排斥反应等,主要采用体内植入方法检测。

(4) 合适的降解速度以匹配组织的生长,且降解产物无毒副作用。支架的降解速度对于组织的生长至关重要,降解太慢会阻碍组织生长,降解太快又会造成组织的坍塌。

(5) 合适的力学性能。保证支架具有稳定的结构,具有与宿主健康血管相近的动力学性能。

(6) 良好的灭菌性能。灭菌处理的目的是大量减少或完全去除血管支架上所带有的微生物,以免细胞或者患者遭受致病微生物的感染,这样会直接影响支架

的生物相容性。

上述 6 个要求主要决定于支架的孔隙结构特点和材料组成。应该注意到, 这些要求有些是相互矛盾的, 如高孔隙率会削弱支架的力学强度, 孔隙过大甚至会引起血液大量渗漏。因此, 在实际设计时就要综合考虑各种情况, 寻求一个平衡点。

1.3 血管支架制造的国内外研究现状

在血管解剖学上, 血管的壁面分为内膜、中膜和外膜三层结构, 各层含有不同的组成成分, 分别赋予血管不同的机理和性能。在设计和加工血管组织工程支架时, 人们尽可能地模仿天然血管的三维结构和组成成分, 以实现相同的生理机能和机械性能。

1.3.1 血管支架的材料

理想的血管支架材料应该是无毒性, 有着良好的生物相容性、生物可降解性、可塑性、表面活性和一定的机械强度, 并且不会引起机体的免疫排斥反应。目前使用的血管支架材料可分为天然生物材料、人工合成材料和复合生物材料三种。

1.3.1.1 天然生物材料

天然生物材料, 包括以胶原、弹性蛋白、壳聚糖、明胶等为代表的来源于天然生物体的大分子无结构材料, 和以脱细胞血管基质、脱细胞小肠黏膜下层基质等为代表的脱细胞组织基质材料。因其多由正常组织细胞外的高分子合成, 本身包含许多生物信息, 能够提供细胞所需的信号^[8]。天然生物材料有着很强的细胞亲和性, 能为细胞的生长、增殖、分化及功能发挥提供近似体内的良好环境。植入体内后没有或只有极低的免疫排斥反应, 而且所构建的组织工程血管具有良好的顺应性。

Weinberg 和 Bell^[9]首先以胶原为支架, 分别接种内皮细胞、平滑肌细胞与成纤维细胞, 构建了具有三层结构的血管组织。刘咸罗等^[10]将犬颈动脉脱细胞处理后, 获得外观和结构均良好的血管基质, 并用作异体移植实验。Wilson 等^[11]制作了犬颈动脉脱细胞血管基质支架, 进行冠状动脉旁路移植, 在术后不使用抗凝药物的情况下观察 4 年, 通畅率达 93%, 无血栓和动脉瘤发生, 在生理血压范围内, 柔顺性与正常动脉相同。

1.3.1.2 人工合成材料

人工合成材料主要是高分子聚合物材料, 分为生物非降解和生物可降解两种, 而血管组织工程更强调的是应用后者。用可降解聚合物材料制作的支架, 有着良好的组织相容性、可塑性和机械强度, 且降解速率可控。聚羟基乙酸 (PGA), 聚乳酸 (PLA)、PGA 与 PLA 共聚物 (PLGA) 和聚羟基丁酸 (P-4-HB) 是目前最采用的构建组织工程血管的支架材料。

Shinoka 等^[12]从羊体内获取血管壁细胞,体外培养 2 周后种植于聚羟基乙酸(PGA)制成管状支架上,继续孵育 7 天后移植于羊的肺动脉,11 周后支架完全消失,管壁内胶原蛋白含量相当于自体肺动脉的 $73.13\% \pm 8.0\%$ 。Nillason 等^[13]采用 PGA 为支架构建的血管,其血管爆破强度为 2000mmHg,缝合强度为 90g,胶原含量超过 50%,移植于猪的髂动脉后血管通畅良好。

1.3.1.3 复合生物材料

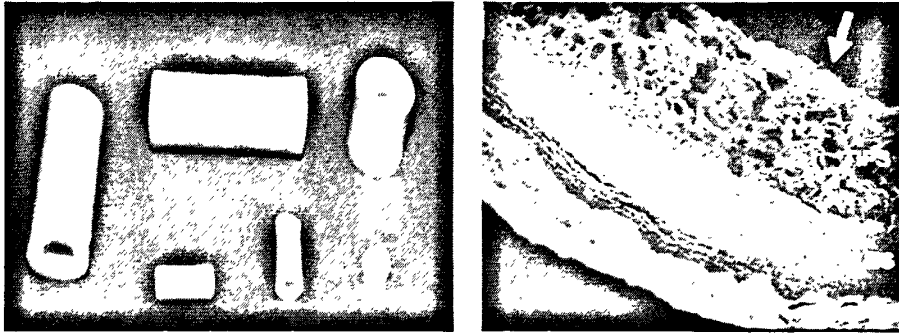
天然生物材料和人工合成材料也各自存在不足。天然生物材料组织强度低,力学性能差,降解过程不易控制;人工合成材料则细胞亲和力和不好,相对不利于细胞黏附和生长。将两者按照一定的方法予以组合可构建成为一种复合生物材料,同时发挥两者的优势。高分子材料可以塑造成各种形状并且提供一个稳定的三维空间;生物材料则在维持组织完整,保护实质细胞,传导介导信号,调控细胞表型,诱导细胞黏附、增殖、分化和迁移等方面发挥其优势。

熊猛等^[14]交联胶原包埋处理 PGA,形成胶原加聚羟基乙酸管形支架,在其内腔面接种牛血管内皮细胞,采用动态旋转培养技术体外培养 10 天,发现该支架具有一定弹性和韧性,在培养液中,能较长时间保持形状。其内表面形成较完整内皮细胞层,覆盖率约 $(72.6 \pm 3.5)\%$ 。Zhu 等^[15]应用戊二醛作为交联剂把生物大分子物质如凝胶、壳聚糖、胶原等固化到 HIA 表面,种植人脐静脉内皮细胞(HUVEC)进行相容性实验。结果显示, HUVEC 的黏附、增殖和生理功能活性均得到明显提高,结合的生物大分子物质促进了组织工程化血管的内皮化。

1.3.2 血管支架的三维结构设计

目前的组织工程血管支架设计,从形态上看,几乎均是直圆管形状(图 1-2(a)),相比于人造血管拥有直圆管型、分岔型和锥形型等略显单一。但在组成上却从单层发展到两层、三层(图 1-2(b)),且选材和成形效果互异,以期尽量模仿自然血管的组成层次及生理功能。

Shum Tim 等^[16]用羟化烷烃的聚合物(PHA)制作双层管状支架,内层以有孔的 PGA 网作为细胞载体,外层以无孔的 PHA 加强机械支撑,支架壁厚 1.5mm。接种细胞后观察,血管壁中胶原蛋白到 3 个月时占相应自体腹主动脉的 $(25.7 \pm 3.4)\%$,5 个月时达 $(99.6 \pm 11.7)\%$,内层有平整的内皮细胞,中层有大量的弹力纤维生成。陶梅等^[17]设计制作了具有三层管壁结构(多孔 PLGA 层-致密 PU 层-多孔 PLGA 层)的可降解组织工程血管支架,分析得出支架的管壁厚度,尤其是中间层厚度,对支架的力学性能有重要影响。



(a) 直圆管形状的血管支架

(b) 双层血管支架

图 1-2 组织工程血管支架的形态结构

1.3.3 血管支架的成形方法

血管支架的成形，人们尝试过气体发泡法^[18]、浸渍-沥滤法^[19]、热致相分离法^[20]、静电纺丝技术^[20]和乳液冷冻干燥法等多种方法。目前应用较为广泛的静电纺丝法和浸渍-沥滤法两种，如图 1-3 所示。

1.3.3.1 静电纺丝法

静电纺丝(electrostatic spinning)，又称电纺丝(electrospinning)，是将高分子聚合物溶液或熔体，在高压静电作用下不断分化和拉伸形成纳米纤维，通过高速旋转的滚筒收集方法，获得平行排列或无纺布状排列的纳米纤维管，即血管支架样品。该方法适用材料范围广，不但能够形成所需口径的管状结构，且能够模仿细胞外基质的组成和结构，为细胞提供良好的生长环境。

C.M.Aaz^[21]等采用静电纺丝法制作了双层(PCL—PLA)血管支架，通过滚筒转速调整使两层纤维丝形成不同的取向水平，制得的支架柔韧性适度，可以很好的促进细胞的生长和繁殖。Mo 等^[22]静电纺己内酯和乳酸的共聚物纳米纤维制成管状支架材料，在体外种植平滑肌细胞，经 1.5 个月培养后得到管状组织。

1.3.3.2 浸渍-沥滤法

该方法是一种通过致孔颗粒致孔的方法，常用于制备有机溶剂溶解的高分子材料支架。具体操作步骤为：(1) 将 NaCl、酒石酸盐、柠檬酸盐、糖或明胶微球等水溶性颗粒按照粒径筛分，加入到溶解于有机溶剂的高分子材料溶液中；(2) 将具有一定外形和尺寸的模具浸入混有致孔剂的聚合物溶液中，取出后迅速冷却，待混合液在模具表面凝固成膜；(3) 将模具浸入用水将致孔剂溶出，在致孔颗粒本身占据的空间则保留了相应的孔隙结构；(4) 脱模干燥后即制得所需尺寸的支架样品。该方法操作简单，易于实现，可以方便地通过调整致孔颗粒的比例以及尺寸调整支架的孔隙率以及微孔尺寸。

周飞^[19]等采用浸渍-沥滤法制作聚氨酯血管支架，通过优化制备的工艺路线，达到控制血管壁厚度、微孔的大小及分布。

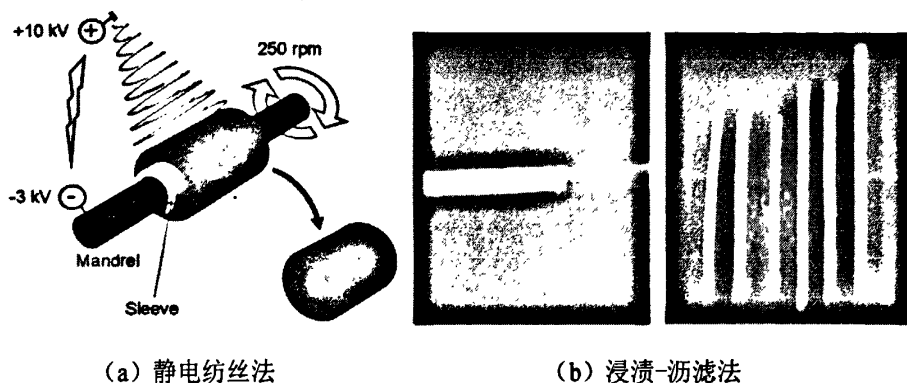


图1-3 组织工程血管支架的加工方法

1.4 快速成形技术

快速成形 (RP) 技术是一种基于离散/堆积成形原理的新型数字化成形技术。它是在计算机的控制管理下, 根据零件的 CAD 模型, 通过材料的精确堆积, 制造原型或零件的。快速成型技术为组织工程血管制造提供了新的理论和技术。

1.4.1 RP 技术原理及典型工艺

如图 1-4 所示^[23], RP 技术的成形过程是: 首先设计出所需零件的 CAD 模型, 然后根据具体工艺要求, 将其按一定厚度分层 (通常是沿 Z 方向), 将其离散为一系列二维层面, 习惯上称为分层或切片 (Slicing), 再将这些离散信息与加工参数相结合, 生成 NC 代码输入给成形机。成形机根据 NC 代码, 顺序加工各单元体并彼此结合, 成形与电子模型对应的三维实体 (又称为物理模型或原型)。最后经过一系列相应的后处理, 得到最终的零件实体。

RP 技术自产生以来, 出现了 30 余种工艺, 各种新工艺还在不断涌现。目前较成熟的 RP 技术包括^[24]: 立体光刻 (Stereolithography Apparatus, SLA), 选择性激光烧结 (Selective laser sintering, SLS), 熔融沉积制造 (Fused deposition modeling, FDM), 分层实体制造 (Laminated object manufacturing, LOM), 多喷头固化 (Multiphase jet solidification MJS) 和三维印刷 (Three—dimensional printing, 3-DP)。

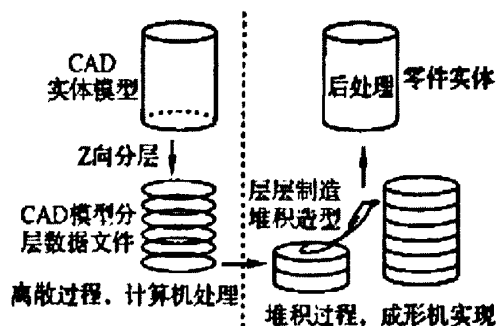


图 1-4 RP 技术成形过程

1.4.2 RP 技术在医学领域的应用

RP 技术具有高度的柔性,快速性,缩短产品上市时间,提高生产效率,改善产品质量,优化设计等优点,自其提出以来,受到了学术界和工业界的重视,被广泛地应用于产品开发与设计、快速工具(Rapid Tooling)、三维复制和医学领域中。其中,RP 技术应用于医学领域最早始于 20 世纪 90 年代初^[25],很大程度上是借助了计算机辅助设计(CAD)、三维散乱点重构和医学断层扫描(如 CT 和核磁共振扫描-MRI 等)图像的三维重构等技术的发展。

美国加州的 Align 整形公司已经采用 SLA 设备制造了超过 100 万个的 RP 模型,作为隐形牙齿校正器。另外一家医疗器械公司 Interpore Cross International 则采用快速成形设备——ModelMaker 制造脊柱植入体^[26]。在组织工程支架的快速成形研究方面也有发展,1992 年,考虑到利用 RP 技术可制备微观结构可调的物件,Cima 等首次尝试将快速成型技术应用于具有药物释放功能的聚丙烯交酯支架的制备,开创了利用 RP 技术制备组织工程支架的先河。Sodian R 等^[27]用 RP 技术制作了组织工程心瓣膜支架。此外,国内外也有许多关于用 RP 技术制作骨组织工程支架的报道^[28-30]。

1.5 本论文的意义及主要研究内容

产业化生产和进入临床应用是组织工程研究的最终目的,而临床上对带瓣膜的大静脉、冠状动脉、血管网等具有复杂结构的组织工程血管有着巨大的需求^[31]。显然,目前血管支架的设计和成形方法比较简单,偏向手工化,根本无法满足上述要求。因此改进支架的制作技术,以实现血管支架的个性化制造有着重要意义。

本论文将快速成形技术引入血管支架的制造中,配合计算机辅助设计,利用低温沉积制造(LDM)工艺制作传统的直圆管支架和结构较复杂的单分支血管支架及树状血管网支架,并对所成形支架的表观特征、物理特性和生物相容性展开研究,探索 LDM 技术在血管支架制造中的潜力,从而推动产业化、个性化血管支架制造技术的发展。

研究的主要内容包括:

(1) 分支血管支架的结构设计研究

以血管的解剖学和生理学为基础,结合血流动力学理论,并辅以计算流体力学分析,进行分支血管形态的结构设计以指导数字模型的 CAD 构建。

(2) 血管支架的低温沉积制造研究

利用三维设计软件 SolidWorks 分别绘制直圆管支架、分支血管支架和树状血管网支架的模型,然后通过快速成形数据处理软件 Aurora 进行分层处理得到数字模型。分别以 PLLA 和 PLGA 为原料,利用 LDM 工艺成形直圆管支架和分支血管支架,根据实际成形情况修改数字模型,以确定出最适宜的模型构建方法及成形

方式。

(3) 低温沉积制造的成形参数研究

研究成形参数对壁厚、微孔结构和壁面粘接等支架表观特征的影响，分析其调控原理。

(4) 支架的物理特性和生物相容性研究

介绍支架的孔隙率、水渗透性和力学性能等支架的物理特性的表征方法，并分别进行评测；通过细胞实验研究支架的生物相容性。

第 2 章 分支血管支架的结构设计研究

2.1 引言

利用低温沉积制造工艺制作血管支架，需要相对应的数字模型。而这一数字模型需要达到两个基本条件：与移植部位相匹配的形态结构，以及与制作工艺相契合的优化表达。本章以血管的解剖学和生理学为基础，结合血流动力学理论，分析动脉分支血管血液流动阻力的分配，为血管分支形态提供了生物力学解释，以最小能耗为目标进行血管分支形态的优化设计，辅以计算流体动力学分析，以指导 CAD 数字模型的构建。

2.2 血管解剖学及生理学分析

人体的循环系统由心脏及各级血管组成（如图 2-1 所示），以心脏为动力器官，血管为血液流通的网络，构成人体内外营养物质及代谢产物交换的环路。血管是中空性器官，有多级分支，从心脏输出血液的血管称为动脉，是血液分配、输送的渠道；血流返回心脏的血管称为静脉，是血液的回流系统；而毛细血管介于两者之间，是完成血液和组织间物质交换的血管，输入的营养物质经此渗入组织基质，组织基质的代谢物则经此渗入血液中^[32]。多分支树形结构是人体动脉网络和静脉网络的典型特征之一。动脉血管逐级向下分级、逐级变细，终于于毛细血管网络；静脉则以毛细血管开始，逐级汇聚长大，图 2-2 是石蜡灌注得到的大鼠肝脏血管树模型。

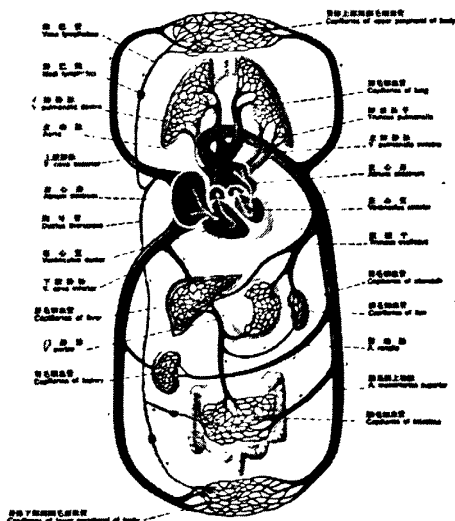


图 2-1 心血管循环系统



图 2-2 大鼠肝脏血管树模型

2.2.1 动脉基本特征

2.2.1.1 组成成分

动脉的内壁面是一层内皮细胞，中层主要是由弹性纤维组织、胶原和平滑肌组成（图 2-3），最外层包围着疏松的结缔组织。动脉呈现出弹性，但是，其各部位的杨氏模量是不同的，并显示出各向异性。胶原、弹性纤维组织和平滑肌的杨氏模量列于表 2-1 中。

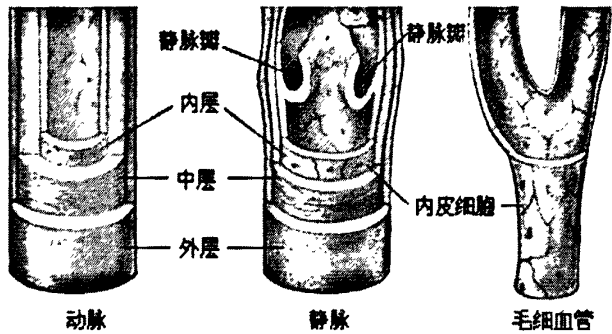


图 2-3 各类血管壁结构

表 2-1 生物体物质的杨氏模量

物 质	杨氏模量 (dyn/cm ²)
胶 原	10 ⁸ ~10 ⁹
弹性纤维组织	(3~6) ×10 ⁶
平 滑 肌	10 ⁵ ~10 ⁷

2.2.1.2 几何学性质

普通动脉的断面为圆形，肺动脉为椭圆形，轴长比（长轴/短轴）为 1.91。当动脉断面为圆形时，其管壁厚度和管径之比约在 0.07~0.13 之间。对于直径在 15~500μm 的小动脉，是通过平滑肌的收缩和松弛来控制直径的，可导致血管闭锁，又可以使血管扩张到通常直径的 2~4 倍。动脉的粗细是不均匀的，沿轴向呈锥度，其圆锥角约有 1°，当动脉为 Y 形分支时，其两分支管的直径大致相等，比主管直径约细 10~20%。

2.2.1.3 内部血液流动

脉动流为动脉血液流动的特征。从主动脉压出的血液压力，将以压力波动形式在动脉内传播，此时，动脉的直径将在平均直径 5% 的范围以内变动。压力波动传播速度比血液流动速度大 10~20 倍，并且随管壁的厚度和弹性而异。一般主动脉的传播速度为 500cm/s，而其它动脉的传播速度为 800~1000cm/s。

在粗的动脉中，有可能会发生湍流，特别是血流速度快，口径大，血液粘滞性低或遇到障碍以及流经血管分支和粗糙面时，正常情况下发生湍流的部位多在主动脉。

2.2.2 毛细血管基本特征

2.2.2.1 组成成分及几何学性质

毛细血管主要由一层扁平的内皮细胞所组成(图 2-3), 细胞基底面附着于基膜, 其周围可见到功能尚未确定的血管周细胞。其直径约为 $6\sim 8\mu\text{m}$, 仅能容纳 1~2 个红细胞通过。普通的毛细血管不具有锥度, 其分支角度随器官和动物的种类不同而异, 肺和肝脏处分支角度为 90° , 肠系膜则为 $30^\circ\sim 45^\circ$ 。

2.2.2.2 内部血液流动

在毛细血管中, 血流速度平均值 0.1cm/s 以下, 现在已经认为它不属于脉动流, 而是作为定常流动来考虑。但是, 由于其管径同红血球的直径大体相等, 故而不能将血液作为均质看待。

2.2.3 静脉基本特征

2.2.3.1 组成成分

同动脉相同, 静脉的内壁面是一层内皮细胞, 中层是弹性纤维组织、胶原和平滑肌, 最外层包围着结缔组织(图 2-3)。同动脉比较, 普通静脉的特点是它的弹性纤维组织和平滑肌较少。而小静脉除了内壁面的一层内皮细胞, 其外侧是胶原结缔组织, 仅较粗的小静脉最外侧还为平滑肌所包围。

2.2.3.2 几何学性质

静脉的内径普遍较相应的动脉内径大, 其直径范围从最细静脉直径 $140\mu\text{m}$ 到大静脉 2cm 。因此, 静脉系统的总体积也较动脉系统大, 它主要是起到血液的回收作用。静脉的内面具有瓣, 用以防止血液的倒流。此外, 因组成成分的差别, 静脉的杨氏模量比动脉大 2~4 倍; 但是, 静脉管壁比动脉管壁薄很多, 所以由于内压引起的半径变化比动脉大 2 倍以上。

2.2.3.3 内部血液流动

静脉系统中的血流速度一般比动脉中的血流速度小, 同时, 它的脉动性也比较小。在静脉系统内, 一个周期内的血压变化约为动脉系统中血压变化的 $1/10$ 以下, 这是由于静脉管壁非常的柔韧。当静脉中的血压降到周围组织的压力以下时, 其断面将会受到影响而成为椭圆形。

由于静脉中血流速度小, 其脉动性也小, 可以认为湍流状况不会发生, 但这只是基于血管的断面为圆形的假设。当周围组织稍有运动时, 静脉管壁就很容易发生变形, 并导致涡旋发生。静脉瓣也是发生涡旋和湍流的原因。

2.3 血流动力学分析和结构设计

血流动力学和一般的流体力学一样, 其基本的研究对象是流量、阻力和压力之间的关系。由于血管是有弹性和可扩张性的管道系统, 血液是含有血细胞和胶体物质等多种成分的液体而不是理想液体, 因此, 血流动力学除与一般流体力学

有共同点之外, 又有它自身的特点。尽管血液中血管系统里的流动非常复杂, 但对于一些非常简单的近似分析, 只要运用得当, 依然可以得到有用的结果, 以指导 CAD 数字模型的构建。

2.3.1 动脉分支血管血液流动阻力的分配

假设血管段可以看作是刚性直圆管 (半径为 R , 长度为 l), 流动是充分发展的层流, 则按 Poiseuille 定律, 血管内血液流量表示为^[33]:

$$Q = -\frac{\pi R^4}{8\eta} \cdot \frac{\Delta x}{l} \quad (2-1)$$

式中: η ——血液粘滞度

Δx ——血管两端压力差

由此可知:

(1) 若 Δx 、 l 和 η 不变, 则

$$\frac{\delta Q}{Q} = 4 \frac{\delta R}{R} \quad (2-2)$$

这时, 血管直径改变 1%, 将引起的流量变化达 4%;

(2) 若 Q 、 l 和 η 不变, 则

$$\frac{\delta(\Delta x)}{\Delta x} = -4 \frac{\delta R}{R} \quad (2-3)$$

这时, 若血管直径减小 1%, 将使流动阻力提高 4%;

考察任一级分支, 来流血管截面积为 A_0 , 分为几个支管, 任一支管的截面积为 A_i 。 $A_0 = \pi R_0^2$, $A_i = \pi R_i^2$ 。设:

$$\beta = \sum_1^n \frac{A_i}{A_0}, \quad \zeta_i = \frac{R_i}{R_0} \quad (2-4)$$

取分支管平均截面积 $A = \pi R^2$:

$$A = \frac{1}{n} \sum_1^n A_i, \quad \zeta = \frac{R}{R_0} \quad (2-5)$$

则:

$$\beta = n\zeta^2, \quad \zeta = \left(\frac{\beta}{n}\right)^{\frac{1}{2}} \quad (2-6)$$

实际上, 动脉血管每一级分支, 都使总的流动面积增大, 即 $\beta > 1$, 但任一分支的面积都减少, 即 $\zeta_i < 1$, 而 $(1/\sqrt{n}) < \zeta < 1$ 。在流动雷诺数较高时, 为了避免因扩张而造成的流动分离, 要求 $\beta < 1.2$ 。实际测量的结果证明了这一点, 当 $Re > 10$

时, β 确实小于 1.2; 而当 $Re \leq 10$ 时, 分支 β 可能大于 1.2。

流动连续性 (质量守恒) 要求:

$$Q_0 = \sum_i^n Q_i, U_0 A_0 = \sum_{i=1}^n U_i A_i \quad (2-7)$$

设

$$\lambda_i = \frac{Q_i}{Q_0} \quad (2-8)$$

则

$$\frac{U_i}{U_0} = \frac{\lambda_i}{\zeta_i^2}, \frac{(Re)_i}{(Re)_0} = \frac{\lambda_i}{\zeta_i} \quad (2-9)$$

若使用分支管的平均面积 A , 则:

$$\frac{U}{U_0} = \frac{1}{\beta}, \frac{Re}{(Re)_0} = (n\beta)^{\frac{1}{2}} \quad (2-10)$$

$\because \beta > 1$, 故 $n \geq 2$, 故总的来说, 分支后支管平均流速减小, 平均分支管雷诺数降低。

设单位管长上的压降为 $\Delta \tilde{x} = \Delta x / l$, 则按 Poiseuille 定律, 若分支时血液表观粘度不变, 则:

$$\frac{(\Delta \tilde{x})_i}{\Delta \tilde{x}_0} = \frac{R_0^4 Q_i}{R_i^4 Q_0} = \lambda_i \zeta_i^4 \quad (2-11)$$

若定义流阻为: $f = \Delta \tilde{x} / Q$, 则:

$$\frac{f_i}{f_0} = \zeta_i^4 \quad (2-12)$$

由此可见, 动脉血管直径从 1cm (升主动脉) 降至 1mm (主要分支动脉) 时, 单管分支流阻力急剧地增大, 约为升主动脉流阻的 10^4 倍。生理测量表明, 循环系统中 90% 以上的流阻来自于直径小于 1mm 的血管。

通过上面的推导可知, 从口径最大的主动脉至毛细血管前的微动脉, 不仅是管径大小的变化, 而且基本结构和血流动力学也逐渐发生规律的变化: 随着近心端至远心端动脉逐级往下分支, 1) 血管口径逐渐减小, 动脉网络的横截面积却逐渐增加; 2) 动脉血流的平均流速减小; 3) 平均分支管雷诺数降低; 4) 单管分支血流阻力增大。这一系列基本结构和功能的变化对组织器官间的血流分配起着重要的调节作用, 以满足局部的生理需求。

2.3.2 血管分支形态的最小能耗优化设计

血管分支有两种形式，分别为图 2-4 中所示的 T 形分支和 Y 型分支，前者是后者的特例。下面的讨论以 Y 型分支为对象展开。血管分支形态的研究，包括分支血管和主血管的夹角，支管半径和主血管半径的关系等。

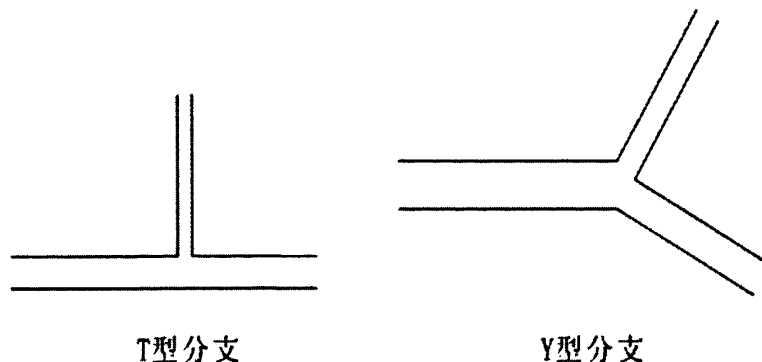


图 2-4 两种血管分支形式

以血管系统一定流量下能量消耗最小为目标，对血管分支形态进行优化分析。血管内能量的损失主要来自：1) 流动阻力引起的机械能损耗；2) 维持血管自身代谢所需要的能量。为简单起见，假设：

(1) 系统是线性的，各管段之间的相互作用可以不计。因此，系统能耗最小与每个管段能耗最小是等价的。

(2) 系统只有一个能源，而且没有耗能集中的“能汇”。心血管系统流动能量几乎完全由心脏提供。

(3) 血管变形的弹性位能是可逆的，不消耗流动机械能。故作优化分析时，可以把流动看作是刚性的。

(4) 血液脉动流的能量损耗主要来自定常分量。故作最优化分析时，可以把流动看作是定常的。

(5) 血液是牛顿流体，流动是充分发展的轴对称层流，故流动遵循 Poiseuille 定律。

设血管段长为 l ，半径为 R ，两端压差为 Δx ，那么流量为 Q 的流体在单位时间内流动摩擦损耗为^[34]：

$$W_f = Q\Delta x \quad (2-13)$$

应用 (2-1) 得：

$$W_f = \frac{8\eta l}{\pi R^4} \cdot Q^2 \quad (2-14)$$

血管自身代谢所消耗的能量与其体积成正比，单位时间内所需代谢能为：

$$W_m = k\pi R^2 l \quad (2-15)$$

式中 k 为常数。那么总能耗为：

$$W = W_f + W_m = \frac{8\eta l}{\pi R^4} \cdot Q^2 + k\pi R^2 l \quad (2-16)$$

可见能耗是 R 、 l 、 Q 的函数。但管长 l 取决于组织部位，流量 Q 是由组织代谢水平所决定的，故 l 和 Q 均可看作不变量。那么 W 取最小值的必要条件是：

$$\frac{\partial W}{\partial R} = -\frac{8\eta l Q^2}{\pi} 4R^{-5} + 2k\pi R l = 0 \quad (2-17)$$

得到最佳半径为：

$$R = \left(\frac{16\eta}{\pi^2 k} \right)^{\frac{1}{6}} Q^{\frac{1}{3}} \quad (2-18)$$

即血管的半径和流过它的血流量 Q 的 $1/3$ 方成正比。此时能耗为：

$$W = \frac{3\pi}{2} k R^2 l \quad (2-19)$$

进而考察图 2-5 所示分支血管系，每一管段均能满足最小能耗条件，按照(2-19)式，则分支系统的能耗为：

$$W = \frac{3\pi k}{2} (R_0^2 l_0 + R_1^2 l_1 + R_2^2 l_2) \quad (2-20)$$

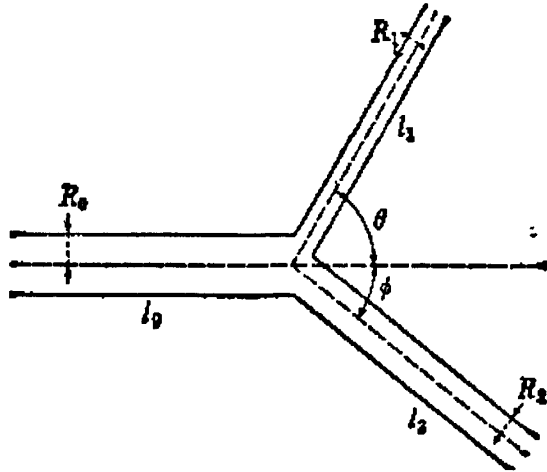


图 2-5 分支血管的几何参数

使 W 最小的结构形态有三种可能，如图 2-6 所示。

(a) 设管半径保持不变， B 在 AB 延长线上位移 δ ，这时管长的变化分别为：
 $\delta l_0 = \delta$ ， $\delta l_1 = -\delta \cos \theta$ 和 $\delta l_2 = -\delta \cos \phi$ 。则能耗的变化为：

$$\delta W = \frac{3\pi k}{2} (R_0^2 \delta l_0 + R_1^2 \delta l_1 + R_2^2 \delta l_2) = \frac{3\pi k}{2} \delta (R_0^2 - R_1^2 \cos \theta - R_2^2 \cos \phi) \quad (2-21)$$

为满足最小能耗条件，要求

$$R_0^2 - R_1^2 \cos \theta - R_2^2 \cos \phi = 0 \quad (2-22)$$

(b) 设管半径保持不变， B 在 CB 延长线上位移 δ ，这时管长的变化分别为：

$\delta l_0 = -\delta \cos \theta$, $\delta l_1 = \delta$ 和 $\delta l_2 = \delta \cos(\theta + \phi)$ 。则能耗的变化为:

$$\delta W = \frac{3\pi k}{2} \delta [-R_0^2 \cos \theta + R_1^2 + R_2^2 \cos(\theta + \phi)] \quad (2-23)$$

为满足最小能耗条件, 要求

$$-R_0^2 \cos \theta + R_1^2 + R_2^2 \cos(\theta + \phi) = 0 \quad (2-24)$$

(c) 设管半径保持不变, B 在 DB 延长线上位移 δ , 这时管长的变化分别为:

$\delta l_0 = -\delta \cos \phi$, $\delta l_1 = \delta \cos(\theta + \phi)$ 和 $\delta l_2 = \delta$ 。则能耗的变化为:

$$\delta W = \frac{3\pi k}{2} \delta [-R_0^2 \cos \phi + R_1^2 \cos(\theta + \phi) + R_2^2] \quad (2-25)$$

为满足最小能耗条件, 要求

$$-R_0^2 \cos \phi + R_1^2 \cos(\theta + \phi) + R_2^2 = 0 \quad (2-26)$$

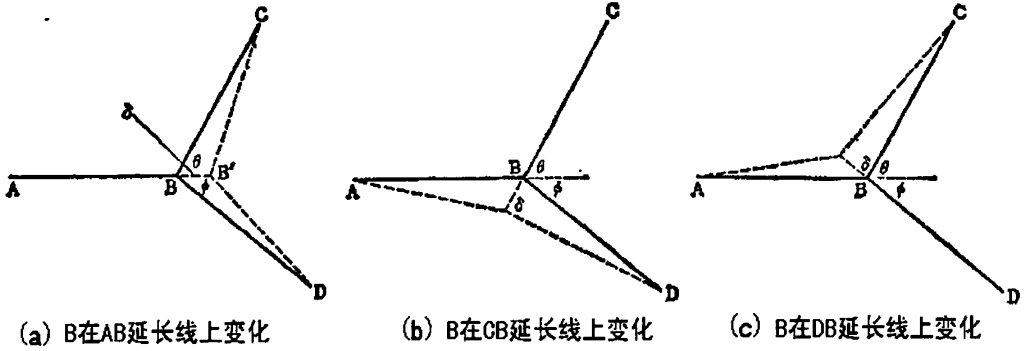


图 2-6 结构形态的三种可能

另一方面, 流量满足 $Q_0 = Q_1 + Q_2$, 且按照 (2-18) 流量和半径的三次方成正比, 故

$$R_0^3 = R_1^3 + R_2^3 \quad (2-27)$$

由 (2-22)、(2-24)、(2-26) 和 (2-27) 可以求出:

$$\cos \theta = \frac{R_0^4 + R_1^4 - (R_0^3 - R_1^3)^{\frac{4}{3}}}{2R_0^2 R_1^2} \quad (2-28)$$

$$\cos \phi = \frac{R_0^4 + R_2^4 - (R_0^3 - R_2^3)^{\frac{4}{3}}}{2R_0^2 R_2^2} \quad (2-29)$$

$$\cos(\theta + \phi) = \frac{(R_1^3 + R_2^3)^{\frac{4}{3}} - R_1^4 - R_2^4}{2R_1^2 R_2^2} \quad (2-30)$$

从上述推导可以得出如下结论:

(1) 如果血管分支时支管的截面积相等, 则分支管对称于主管轴的延长线。

即若 $R_1 = R_2$, 则 $\theta = \phi$ 。并且:

$$\because R_0^3 = 2R_1^3, \text{ 则 } \frac{R_1}{R_0} = \frac{R_2}{R_0} = \frac{1}{\sqrt[3]{2}} \approx 0.794$$

$$\because \cos \theta = \cos \phi = 0.629, \text{ 则 } \theta = \phi \approx 51^\circ$$

(2) 若分支管的大小不同, 则细支管与主管轴延长线的夹角比粗支管与主管轴延长线的夹角大。

(3) 当一根分支管很粗, 另一根分支很细时, 细支管和主管轴大体上成直角。即若 $R_1 \ll R_2$, $R_2 \approx R_0$, 则

$$\theta \approx \frac{\pi}{2}, \phi \approx 0^\circ$$

这其实就是 T 形分支血管的情况。

2.4 计算流体动力学分析和结构设计

血管是人体内感受血液流动变化最迅速的器官^[35]。血液在血管中流动能够产生一系列作用于血管的应力, 其大小、频率、方向随血流变化而变化。已知血液流动过程中对血管产生的作用力主要有: 血管压力和血管流动时产生的摩擦力, 即分别为垂直作用血管的血压和平行于血管的剪切力 (shear stress)。国内外大多数学者认为, 血管壁血压增加或血流减慢所致剪切力降低都可诱导血管重构, 从而导致血管疾病的发生和发展。大量研究表明, 诸如动脉粥样硬化、高血压、脑卒中等常见心脑血管疾病的发生机理都与血液流动时作用于血管的应力密切相关。已知血管动脉硬化的部位并非随机发生, 而是发生在血管分支和拐弯等血液作用经常发生变化的部位, 血液动力学异常是血管重构和动脉硬化发生的重要成因。因此, 有必要研究分支血管内流场的特性, 包括速度分布、剪应力分布、压力分布等。

计算流体动力学 (Computational Fluid Dynamics, 简称 CFD) 是研究复杂流体力学问题的计算方法^[36], 其主要目标是研究、建立合理反映实际流动系统的数学模型和数值模型。由于问题复杂、信息量大, CFD 运用了软件工程和图像处理等现代技术, 进行数值模型的求解与软件包的设计、诊断、调试以及数据处理、可视化与仿真。COSMOSFloWorks 作为一种典型的 CFD 分析软件, 以分析插件的形式整合在三维设计软件 SolidWorks 中, 能与 SolidWorks 的产品设计环境实现无缝集成, 提供流体动力学和热传导分析。在本论文中, 首先利用 SolidWorks 模拟分支血管建模, 再通过 COSMOSFloWorks 进行流体动力学分析观察该模型内的流场特性。

模型建立: 为简化模型, 设计一个分支管对称的 Y 型分支血管 (图 2-7 (a)), 主管管腔直径 6mm, 长 12mm; 子管管腔直径 5mm, 长 11mm, 分支夹角 45° 。在 SolidWorks 中实现时依次进行拉伸、放样、切除和圆角四个步骤。

边界条件及参数：模型入口处按 0.5kg/s 的流量（Inlet Mass Flow）进入（图 2-7（b））；出口选择静态压力（Static Pressure），接受缺省的参数值静态压力（101325Pa）和温度的（293.2K）。管壁假定绝热、不可压缩性；血液假定为不可压缩的定常流，粘度值参考以往报道设为 $10 \times 10^{-3} \text{Pa/s}$ [37]。

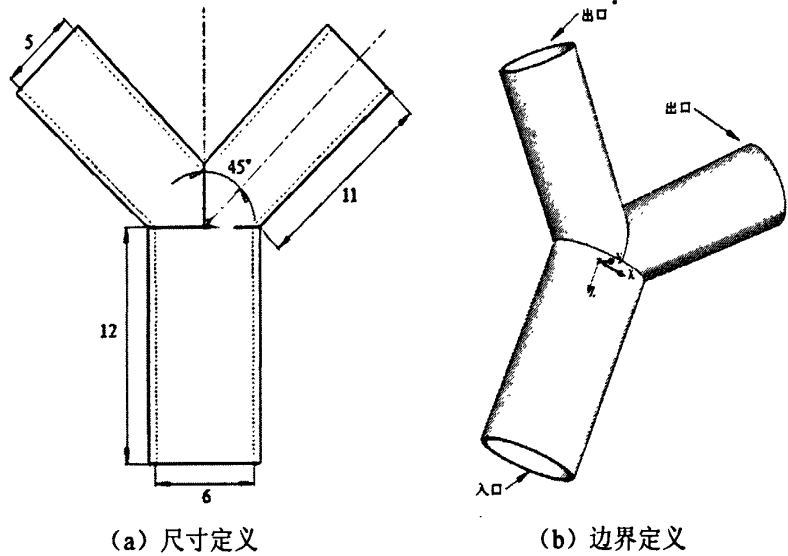


图 2-7 分支血管模型

分析结果如图 2-8 所示。图（a）为速度截面图，流体在主管内表现为层流，流速较稳定，仅近管壁处流速略低。进入分支管段后，流速变化范围增大，从内管壁到外管壁速度逐渐减小，在有的部位甚至接近于零。如此剧烈的速度变化对血流剪切力会有一定程度的影响。图（b）为壁面压力图，可以看到整个模型的压力最高点集中出现在两个分支管的交汇处（图中黑色箭头所指处），而压力最低点则对称分布在红色箭头所指处。

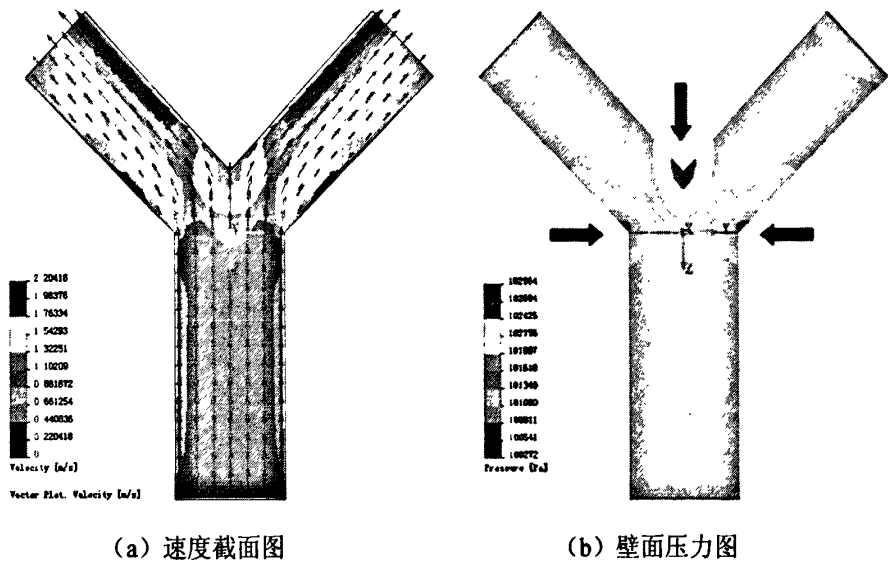
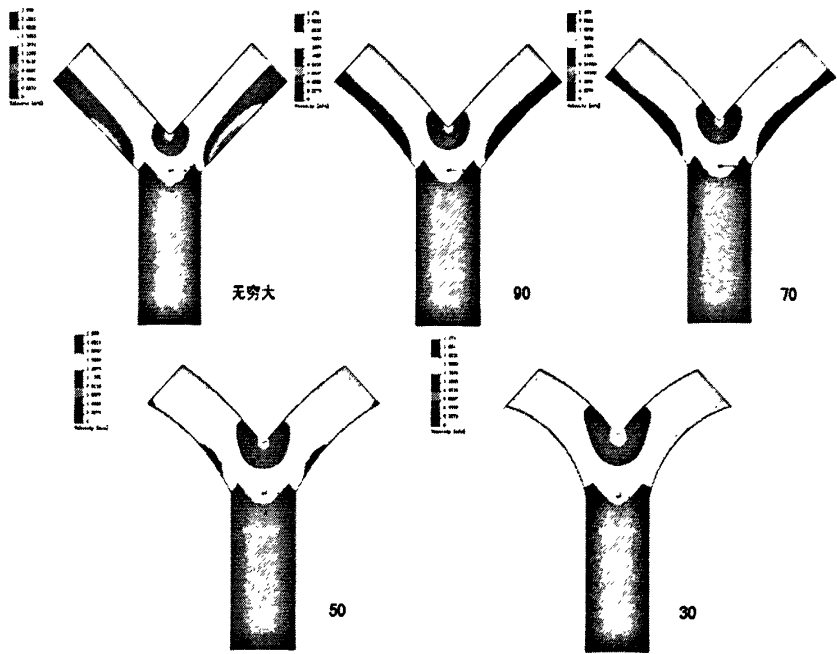
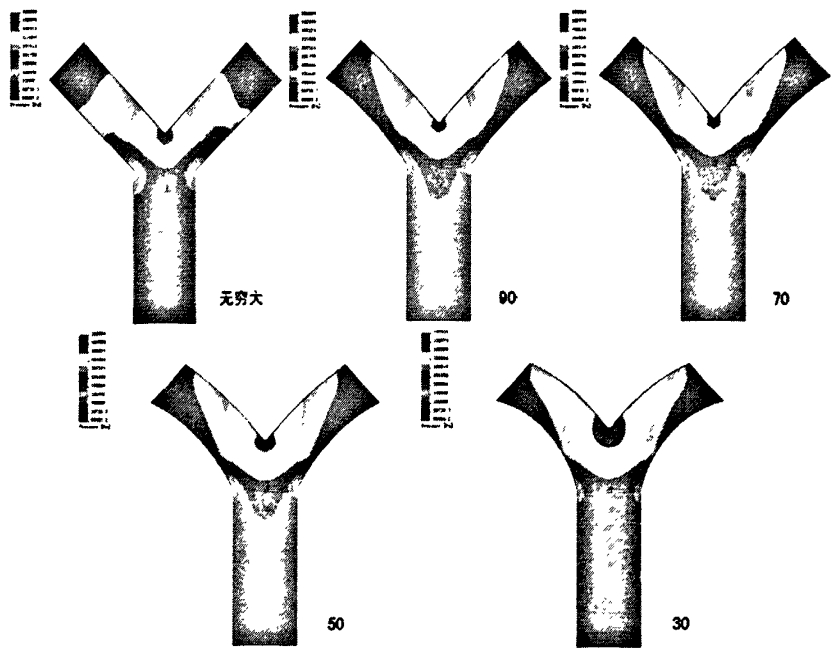


图 2-8 COSMOSFloWorks 分析结果

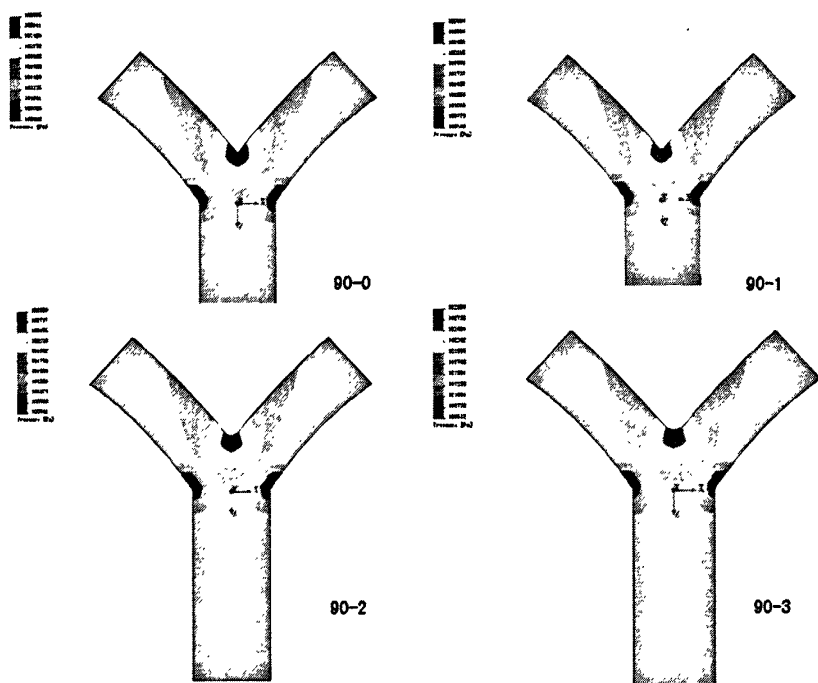
修改模型绘制时的参数值，比较不同参数下的流场特性（图 2-9）。参数包括分支管放样时引导线的曲率半径和分支管交汇处的圆角半径，对分析结果的颜色比例尺进行了统一处理。图（a, b）显示，随着分支管放样时引导线的曲率半径由大变小，分支管与主管之间的联接越来越圆滑，（a）中分支管段流速的变化逐渐趋于缓和，变化范围缩小，流速趋近于零的部位基本消失；（b）中压力的端值出现部位并未受到影响，但分支管交汇处较大压力的分布范围有增加的趋势。



(a) 引导线的曲率半径对流速的影响



(b) 引导线的曲率半径对壁面压力分布的影响



(c) 交汇处的圆角半径对壁面压力分布的影响

图 2-9 不同参数下的流场特性

图(c)则对比了分支管交汇处的圆角半径对壁面压力的影响,可以看到,随着圆角半径的增加,压力的分布情况基本没有变化。那么在分支血管成形设计时,为了保证壁面能够耐受血流的冲击压力,可以适当加厚该处壁面。

根据上述分析可知:1) 流体进入分支管后,流速变化范围增大,从内管壁到外管壁速度逐渐减小,在有的部位甚至接近于零;2) 两分支管的交汇处是血管承受血流压力最大的部位,而主管与分支管连接处是压力最小部位;3) 主管与分支管之间的联接圆滑有助于减缓分支管外壁处速度趋于零的趋势;4) 分支管交汇处的圆角半径变化对血管壁上的压力分布无影响。

2.5 本章小结

本章以血管的解剖学和生理学为基础,结合血流动力学理论和计算流体动力学分析方法,分析了循环系统阻力分布,为血管分支形态提供了生物力学解释;以最小能耗为目标进行血管分支形态的优化设计;并模拟了分支血管内的流场以研究其特性。上述研究均以为 CAD 数字模型的构建做指导为目的。

(1) 从口径最大的主动脉至毛细血管前的微动脉,不仅是管径大小的变化,而且基本结构和血流动力学也逐渐发生规律的变化:随着近心端至远心端动脉逐级往下分支,1) 血管口径逐渐减小,动脉网络的横截面积却逐渐增加;2) 动脉血流的平均流速减小;3) 平均分支管雷诺数降低;4) 单管分支血流阻力增大。

(2) 以最小能耗为目标进行血管分支形态的优化设计,其最优半径为:

$$R = \left(\frac{16\eta}{\pi^2 k} \right)^{\frac{1}{6}} Q^{\frac{1}{3}}$$

同时，1) 如果血管分支时支管的截面积相等，则分支管对称于主管轴的延长线；2) 若分支管的大小不同，则细支管与主管轴延长线的夹角比粗支管与主管轴延长线的夹角大；3) 当一根分支管很粗，另一根分支很细时，细支管和主管轴大体上成直角。

(3) 流体进入分支管后，流速变化范围增大，从内管壁到外管壁速度逐渐减小，在有的部位甚至接近于零；而通过增加主管与分支管之间的连接圆滑程度，有助于减缓分支管外壁处速度趋于零的趋势。两分支管的交汇处是血管承受血流压力最大的部位，改变分支管交汇处的圆角半径并不对血管壁上的压力分布产生影响。

第3章 血管支架的低温沉积制造研究

3.1 引言

直圆管形状是最传统的血管移植物的形状，也是目前组织工程血管支架中研究最广泛的。本章以直圆管支架作为切入点，研究如何将 LDM 工艺应用在血管支架的制作中。然后进一步对单分支血管支架、树状分支血管网支架的成形方式展开研究。

3.2 低温沉积制造（LDM）工艺简介

低温沉积制造是由清华大学提出的一种将材料的挤压/喷射过程和热致相分离过程集成起来的快速成形新工艺。相比其它快速成形工艺，LDM 存在以下特点：

(1) 是材料的挤压/喷射与热致相分离过程相集成的工艺。这种集成不是将两种工艺过程简单的结合在一起，而是通过软硬件集成，综合了两种工艺各自的优点，克服了各自的不足。在成形室中，通过一次成形，实现既包含大孔又包含微孔的分级结构。

(2) 可以很好的保持材料的生物学性能，具有更广泛的材料适应性^[38]。在工艺过程中，材料始终在室温或低于室温的环境下处理，有利于保证材料原有的理化性能，生物学性能不受影响。即使是对温度非常敏感的一些生物活性蛋白，经过这样的处理过程，其生物活性也不会受到影响。

(3) 可以成形复杂的非均质材料支架。通过多喷头技术，可以实现复杂非均质材料的成分梯度；由于采用基于挤压/喷射的工艺原理，不需去除多余材料，可以实现复杂非均质材料的精细的孔隙结构梯度。

3.2.1 LDM 系统组成

LDM 的系统构成，包括软件系统和硬件系统两部分，分别进行数字模型的建立和实体支架的成形制造。

3.2.1.1 软件系统

软件系统的工作流程为（图 3-1）：由三维重构或者 CAD 生成目标物的轮廓模型（STL）；对 STL 文件进行检验和修正后，按照大孔结构信息将其分层，并进行层片内的填充处理，生成层片文件（SLI，CLI）；经检验/修正后转换成可以驱动硬件系统的扫描矢量。STL、SLI 和 CLI 都是快速成形技术的数据转换格式。

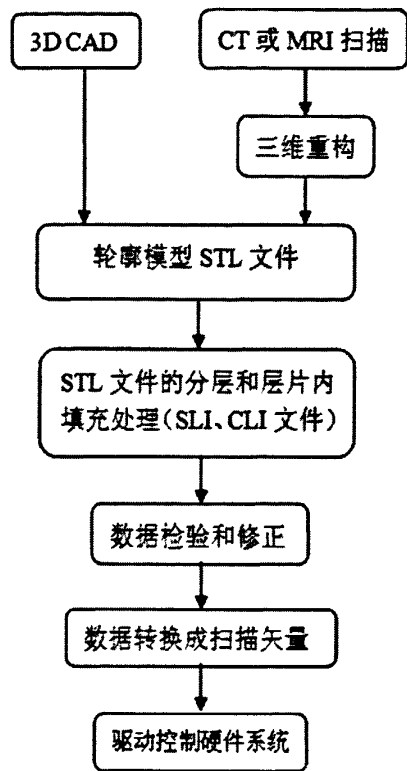


图 3-1 软件系统工作流程

3.2.1.2 硬件系统

本论文的研究是基于北京殷华激光快速成形与模具技术有限公司研发的 TissForm III 低温成形机（图 3-2），它包括喷头模块、扫描运动模块和成形室模块三部分。



图 3-2 TissForm III 低温成形机

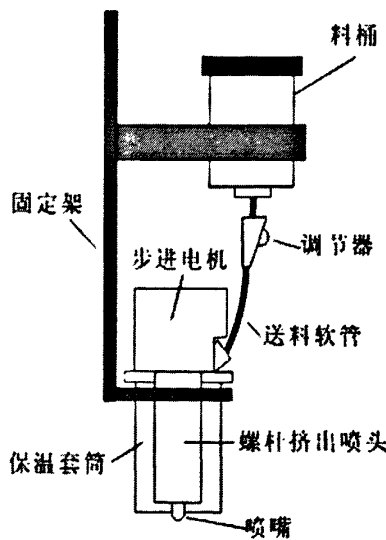


图 3-3 喷头模块结构

(1) 喷头模块

喷头模块实现浆料的送进和挤压/喷射。浆料在室温下配置，呈现具有流动性的凝胶态。如图 3-3 所示，浆料依靠自重经透明软管自储料桶流入喷头中。其中，软管中间段安装了调节器，通过改变流道的横截面积来控制流量与流速。喷头为源自 FDM 工艺的单螺杆挤出喷头，通过改变螺杆的旋转速度来改变其对浆料的剪切力，从而调节浆料的挤出速度。为了保持浆料的初始温度，喷头外围加上了一个保温套筒实现温度控制。喷头的温度控制系统由温度检测和温度控制两部分组成（图 3-4），温度检测部分由温度传感器检测被控制对象的温度，并将温度值变换为温控器所能接受的电信号，由温控器对这些电信号进行变换，可控硅是执行元件，控制加热对象的加热器。

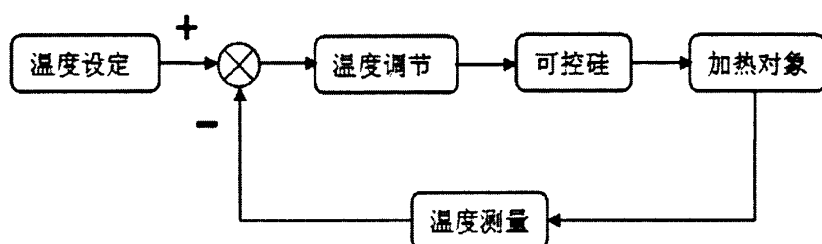


图 3-4 喷头的温度控制

(2) 扫描运动模块

扫描运动模块实现喷头在 XY 平面内的扫描运动和喷头与工作台面在 Z 方向上的相对运动，保证从喷嘴出来的材料的精确堆积。其中 X 轴和 Y 轴的运动需要带动喷头在平面内按照支架外形和大孔结构的设计要求进行精确而复杂的扫描运动。Z 轴的运动是为了实现每一个层片完成之后，工作台和喷头之间的相对距离增加一个层厚，为下一层的成形做准备，它与 XY 轴的运动不同时进行。

(3) 成形室模块

成形室模块为整个成形过程提供可控的低温环境，保证从喷头出来的材料适时冷却固化。所采用低温冰箱带有独立的温控系统，最低的制冷温度为 -40°C ，恒温能力为 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ 。如图 3-5 所示，成形室的空间大小为 $290\text{mm}(\text{X 方向}) \times 300\text{mm}(\text{Y 方向}) \times 210\text{mm}(\text{Z 方向})$ ，一侧有可以打开的操作门，门上是一个观察孔。顶部敞开，喷头由顶部进入，在不阻碍喷头运动的前提下，装有硅胶压制的薄膜作为密封结构，实现隔热及防尘功能。

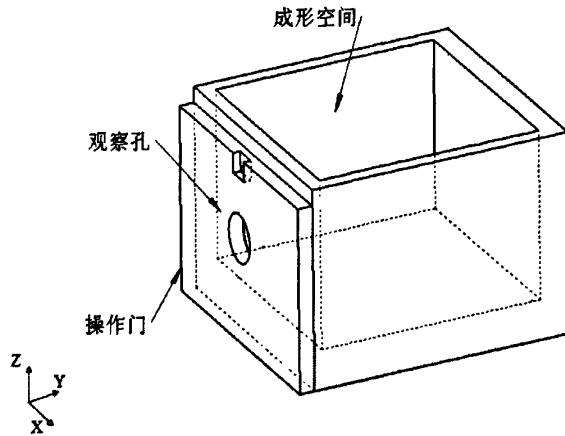


图 3-5 成形室结构示意图

3.2.2 LDM 工艺流程

LDM 的具体工艺流程为：

(1) 利用三维制图软件（如 SolidWorks、Pro-E 等）设计目标物的轮廓模型，或者利用三维反求软件（如 Mimics）提取 CT/MRI 等医学图像信息重构实体模型。利用分层软件（如 Aurora）将模型分层以获得数据层片信息，该层片信息中包含了宏观轮廓信息和微观孔隙结构信息。

(2) 将选定的高分子材料溶解于适当的溶剂中，搅拌均匀制成浆料备用，需要时还可以加入致孔颗粒或者其他不溶颗粒（如钙磷盐等）与溶液混合制成均匀悬液。本论文中选择制作血管支架较常采用的 PLGA（70/30，山东省医疗器械研究所）和 PLLA 分别溶于 1,4-二氧六环（分析纯，上海化学试剂公司）中，制成浆料。

(3) 将浆料加入成形设备的储料桶中。计算机中的数控软件（如 Cark）根据输入的层片信息控制喷头的扫描运动和挤压/喷射，在低温成形室中，从喷头中出来的材料迅速凝固且相互粘接在一起，堆积成形与设计模型外观相同的冷冻支架。

(4) 将冷冻支架放入冷冻干燥机中，进行冷冻干燥处理，去除溶剂，得到常温下为固态的支架。如果浆料中还有加入致孔颗粒，则冷冻干燥后还需要溶解去除致孔颗粒。

在上述步骤（3）中，冷冻支架成形的详细过程如图 3-6 所示。成形开始后，在计算机的控制下，喷头进行 XY 平面内的扫描运动并将浆料挤压/喷射到工作台上的指定位置处。在低温成形室中，浆料丝会迅速冷却固化，并与工作台粘接在一起（图（a））。一层浆料丝沉积完成，工作台下移一定距离 Δh （该距离在分层时设定为层高）（图（b））。喷头继续进行扫描运动和挤压运动，进行新的一层浆料丝的堆积，同时浆料丝冷却固化后与上一层浆料丝粘接在一起（图（c））。如此反复，直到完成整个冷冻支架的成形（图（d））。

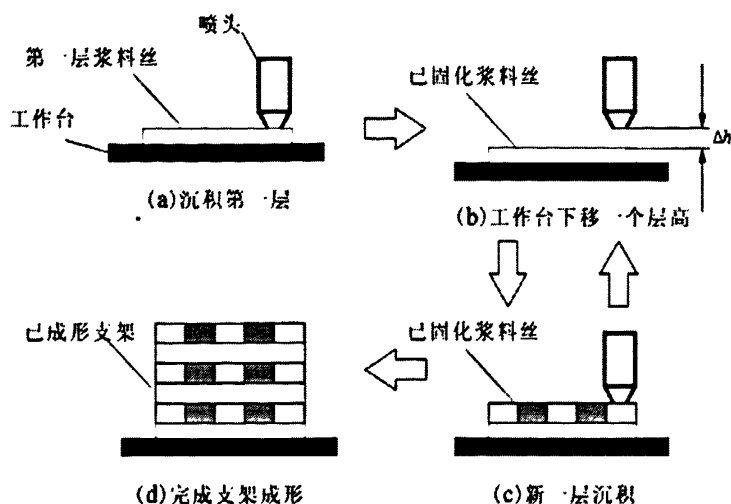


图 3-6 冷冻支架成形过程

3.3 直圆管支架的制作

3.3.1 数字模型方案设计及实施

LDM 工艺的成形原理，是在相应的数字模型指导下，将浆料层层堆积，从二维扩展到三维，最终获得所需的实体支架。为了更好地指导成形过程，在设计数字模型时，要考虑成形的可行性，复杂性，甚至是支架表现特征的可调控性。在本论文中，数字模型的设计包括三维设计软件 SolidWorks 的三维建模和快速成形数据处理软件 Aurora 对所建立模型的分层处理。图 3-7 所示为四种直圆管支架的数字模型设计方案。

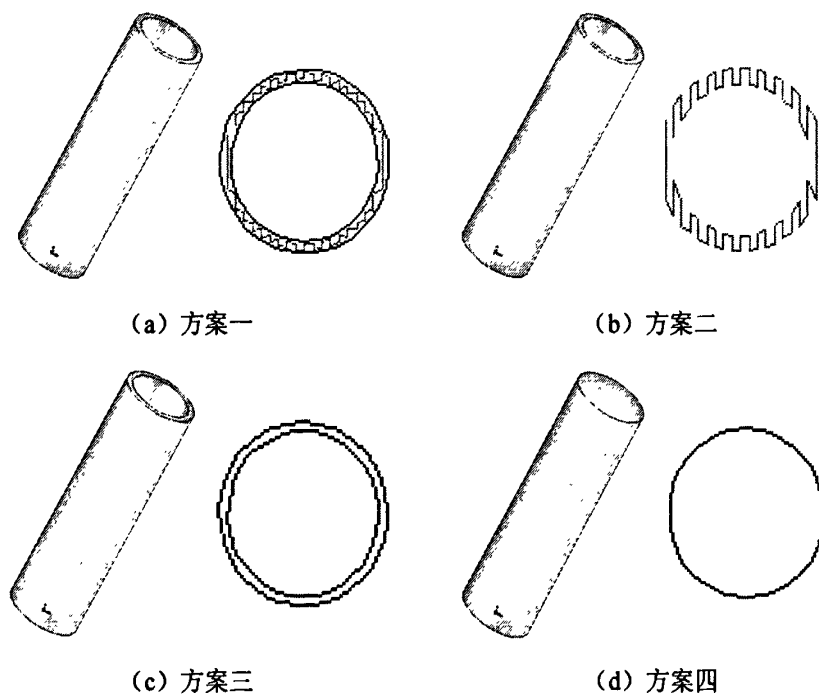


图 3-7 数字模型设计方案

(1) 方案一是利用 SolidWorks 绘制一个直圆管, 按照实体支架的尺寸要求定义其长度、内径和壁厚的尺寸。Aurora 分层时同时选择“轮廓”和“填充”, 其中填充线宽根据具体的壁厚尺寸进行调整。处理结束后, 数字模型的二维层面同时出现轮廓线条(红色)和填充线条(绿色)。其中轮廓线条因为包含了内外轮廓所以有两条, 其直径分别同于三维模型的内径和外径。

(2) 方案二是利用 SolidWorks 绘制一个直圆管, 按照实体支架的尺寸要求定义其长度、内径和壁厚的尺寸。Aurora 分层时仅选择“填充”, 填充线宽根据具体的壁厚尺寸进行调整。处理结束后, 数字模型的二维层面仅出现填充线条。

(3) 方案三是利用 SolidWorks 绘制一个直圆管, 按照实体支架的尺寸要求定义其长度、内径和壁厚的尺寸。Aurora 分层时仅选择“轮廓”。处理结束后, 数字模型的二维层面仅出现轮廓线条。

(4) 与上述三个方案不同, 方案四是利用 SolidWorks 绘制一个直圆柱, 按照实体支架的尺寸要求定义其长度和直径的尺寸。Aurora 分层时仅选择“轮廓”。处理结束后, 因为只存在外轮廓, 所以数字模型的二维层面仅出现一条轮廓线条, 其直径同于三维模型的直径。

依次实施上述四种方案, 成形效果表现如下(图 3-8 所示):

(1) 因为三维模型的壁厚设计值较小(0.7mm 以下), 方案一指导下的成形, 轮廓扫描和填充扫描发生了重叠, 即在同一层进行了重复堆积, 将成形过程复杂化。

(2) 方案二指导下的成形, 支架实体出现了明显的缺口, 且壁面不圆滑, 呈现波浪形的起伏, 如图(a)所示。

(3) 方案一至三的设计中, 预期通过在三维模型中定义不同的壁厚来实现支架壁厚的调控。但成形结果发现, 因为浆料丝具有一定的宽度, 实际得到的壁厚往往大于设计值; 而且所成形的支架壁厚有一个下限值, 当壁厚的设计值小于 0.5mm 时则根本无法实现。

(4) 在方案一至三的指导下, 不同壁厚设计值的支架, 其成形壁厚差距不大, 不利于进行壁厚的调控。如图(b)所示, 三个支架的壁厚设计值依次为 0.7mm, 0.5mm 和 0.3mm, 但实际壁厚的两两差距并没有这么大比例。

(5) 方案四指导下的成形过程复杂度最低, 壁厚可以通过改变工艺参数来调控。

(6) 四种方案指导下的成形, 随着 Z 方向上的累积, 浆料丝的冷却固化速度逐步变慢。当堆积到近 3mm 高时, 固化速度已经明显慢于扫描速度, 即喷头已进入新一层浆料丝的挤出时, 上一层的浆料丝还没能有效固化, 导致支架顶部浆料丝越来越糊, 壁面逐渐向中心扩张, 最终在近 5mm 高时彻底将中空的孔堵死, 如

图 (c, d) 所示。

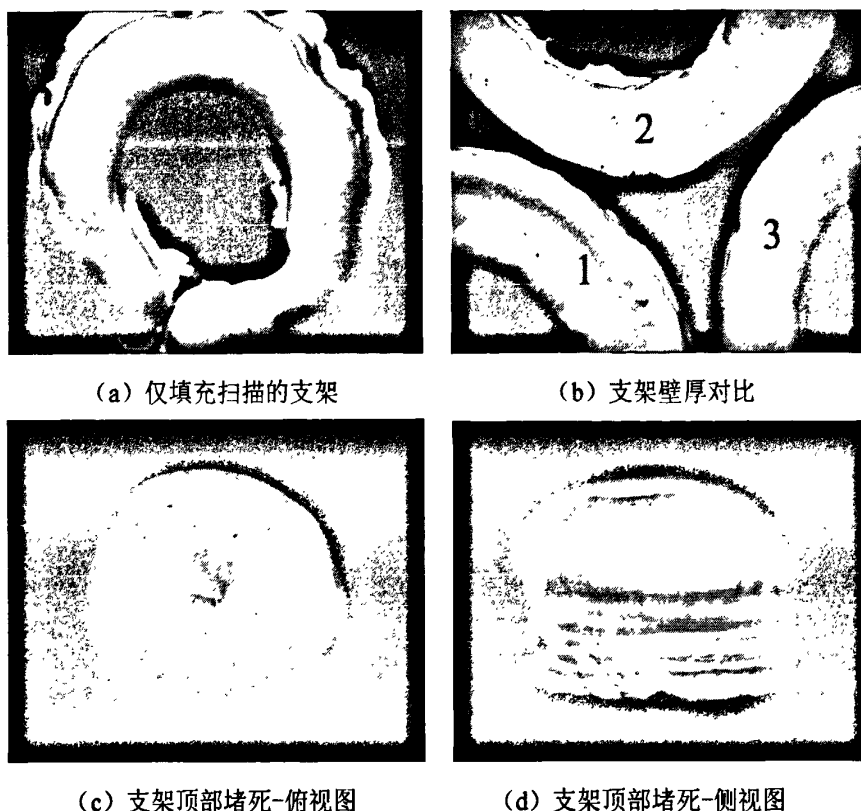


图 3-8 数字模型方案实施

通过比较, 方案四相对优于其它三种方案, 但因为成形高度问题无法解决, 所以方案仍需改进。

3.3.2 浆料丝的冷却固化研究

方案四的最大弊端在于成形到一定高度时, 浆料丝的冷却固化速度即跟不上扫描速度, 从而导致支架无法正常成形, 因此有必要对浆料丝的冷却固化进行研究。

相对骨组织工程支架, 血管组织工程支架的制作有其特殊性, 因为要求内径小且壁厚适当, 则模型尺寸设计较小, 扫描时采取单线轮廓的扫描方式, 结果极大的缩短了单层扫描的时间。如果每一层浆料丝冷却固化的耗时长于该时间, 支架就无法正常成形。

分析液态浆料丝在低温成形室中的冷却固化过程: 这一过程中浆料内能的减少 $Q_{\text{减}}$ 等于浆料向外界散失的热量 $Q_{\text{散}}$, 而这部分热量经由热传递被工作台或者周围的空气吸收。同时, 这一过程实际上包含浆料丝在成形室中的降温子过程和浆料丝由液相向固相转化的相变子过程^[39], 分别称为子过程 1 和子过程 2。

为了定性讨论, 对于单层浆料丝可以做如下假设:

(1) 浆料的初始温度为 T_N (即喷头温度), 忽略浆料自喷嘴挤出的先后所导致

的沿扫描方向上的热传递。

(2) 在冷却固化过程中, 浆料的各项物性参数及成形室温度均保持不变。

(3) 浆料与外界的接触面积固定为 A 。

(4) 浆料与工作台之间简化为平壁一维稳态导热, 沿垂直于工作台面方向。

(5) 浆料与周围空气之间为自然对流换热, 忽略因喷头的扫描运动而引起的成形室中的空气流动。

液态浆料丝初始温度为 T_N (零上), 成形室温度为 T_E (零下)。已固化浆料丝的温度为 T_S , 成形室温度仍为 T_E 。

3.3.2.1 热传导

对于最初几层的支架堆积, 浆料丝的冷却固化受工作台影响较大, 热传递主要以热传导的方式进行。在子过程 1 中, 对于浆料丝的温度由 T 变化至 $T + \Delta T$ 的微小过程:

$$\Delta Q_{\text{减}1} = \Delta Q_{\text{散}1} \quad (3-1)$$

$$\Delta Q_{\text{减}1} = -mc\Delta T \quad (3-2)$$

式中: m ——所考察的浆料丝的质量

c ——浆料的比热容

由傅立叶定律^[40], 有:

$$\Delta Q_{\text{散}1} = \lambda A \frac{T - T_E}{\delta} \Delta t \quad (3-3)$$

式中: λ ——工作台的导热系数

δ ——工作台厚度

A ——单层浆料丝与工作台的接触面积

t ——时间

联立 (3-1) ~ (3-3) 式, 推出:

$$\Delta t = -\frac{mc\delta\Delta T}{\lambda A(T - T_E)} \quad (3-4)$$

将其在子过程 1 中对时间进行积分, 推出子过程 1 持续的时间为:

$$t_1 = \frac{mc\delta}{\lambda A} \ln \frac{T_N - T_E}{T_S - T_E} \quad (3-5)$$

在子过程 2 中, 浆料丝的温度保持 T_S , 释放出相变潜热:

$$Q_{\text{减}2} = Q_{\text{散}2} \quad (3-6)$$

$$Q_{\text{减}2} = m\theta \quad (3-7)$$

$$Q_{\text{散}2} = \lambda A \frac{T_S - T_E}{\delta} t_2 \quad (3-8)$$

式中: θ ——相变潜热

t_2 ——子过程 2 持续的时间

联立 (3-6) 式~ (3-8) 式, 推出:

$$t_2 = \frac{m\theta\delta}{\lambda A(T_S - T_E)} \quad (3-9)$$

从而, 热传导方式为主的浆料冷却固化过程总耗时为:

$$t = t_1 + t_2 = \frac{m\delta}{\lambda A} \left(c \ln \frac{T_N - T_E}{T_S - T_E} + \frac{\theta}{T_S - T_E} \right) \quad (3-10)$$

3.3.2.2 热对流

堆积到一定高度后, 浆料丝的冷却固化受周围空气影响较大, 热传递主要以热对流的方式进行。在子过程 1 中, 对于浆料温度由 T 变化至 $T + \Delta T$ 的微小过程:

$$\Delta Q'_{\text{减}1} = \Delta Q'_{\text{散}1} \quad (3-11)$$

$$\Delta Q'_{\text{减}1} = -mc\Delta T \quad (3-12)$$

由牛顿冷却定律, 有:

$$\Delta Q'_{\text{散}1} = \alpha A(T - T_E)\Delta t' \quad (3-13)$$

式中: α ——浆料与空气的自然对流换热系数

A ——单层浆料丝与空气的接触面积

联立 (3-11) ~ (3-13) 式, 推出:

$$\Delta t' = \frac{mc\Delta T}{\alpha A(T - T_E)} \quad (3-14)$$

将其在子过程 1 中对时间进行积分, 推出子过程 1 持续的时间为:

$$t'_1 = \frac{mc}{\alpha A} \ln \frac{T_N - T_E}{T_S - T_E} \quad (3-15)$$

在子过程 2 中, 浆料丝的温度保持 T_S , 释放出相变潜热:

$$Q'_{\text{减}2} = Q'_{\text{散}2} \quad (3-16)$$

$$Q'_{\text{减}2} = m\theta \quad (3-17)$$

$$Q'_{\text{散}2} = \alpha A(T_S - T_E)t'_2 \quad (3-18)$$

式中: t'_2 ——子过程 2 持续的时间

联立 (3-16) ~ (3-18) 式, 推出:

$$t'_2 = \frac{m\theta}{\alpha A(T_S - T_E)} \quad (3-19)$$

从而, 热对流方式为主的浆料冷却固化过程总耗时为:

$$t' = t'_1 + t'_2 = \frac{m}{\alpha A} \left(c \ln \frac{T_N - T_E}{T_S - T_E} + \frac{\theta}{T_S - T_E} \right) \quad (3-20)$$

3.3.2.3 小结

对比 (3-10) 式与 (3-20) 式发现:

(1) 对于特定的浆料和扫描参数、设备参数, m 、 δ 、 A 、 c 、 θ 和 T_S 均为常数; 在有限的温度范围内, 可以忽略 λ 与 α 随温度变化的改变。那么浆料丝的冷却固化时间与成形过程的温度参数有如下关系式:

$$t(\&t') \sim \left(c \ln \frac{T_N - T_E}{T_S - T_E} + \frac{\theta}{T_S - T_E} \right) \quad (3-21)$$

即当喷头温度 T_N 固定不变时, 冷却固化时间随成形室温度 T_E 的降低而缩短; 当成形室温度 T_E 固定不变时, 冷却固化时间随喷头温度 T_N 的降低而缩短。

(2) 两种热量传递方式的时间差异来自于 δ/λ 与 $1/\alpha$ 。

工作台厚度约为 0.02m; 其材质为铝合金, 查表^[41]可得, 在 0°C 时, 铝或者铝合金的导热系数 λ 均在 100 W/(m·°C) 以上, 那么 δ/λ 为 10^{-4} 数量级。

对于自然对流换热系数, 其一般关系式可以表示为:

$$\alpha = f(\rho g \beta \Delta t, l, \rho, \mu, c_p, \lambda) \quad (3-22)$$

式中, ρ , μ , c_p 和 λ 体现了流体物性的影响; l 反映换热物体几何特点的影响; $\rho g \beta \Delta t$ 则表示发生自由流动的根本原因——浮升力的影响。鉴于确定 α 的复杂性, 这里我们按照实验准则关系式:

$$N\mu_m = B + C(Gr_m \cdot Pr_m)^n \quad (3-23)$$

对其进行了大体估算。计算模型设定为发生在大空间的自由流动换热, 换热物体几何形状简化为外径 5mm 的横管, 推出: $\alpha = 13.42 \text{ W}/(\text{m}^2 \cdot ^\circ\text{C})$, 则 $1/\alpha$ 为 10^{-1} 数量级。

暂不考虑 t 与 t' 的相同组成部分, 从二者差异部分的数量级上对比, t 与 t' 分别为 10^{-4} 和 10^{-1} 量级, 那么热传导方式的冷却固化速度明显远大于热对流方式。因此, 定义热对流方式下的成形条件为正常成形的下限条件, 要求工艺参数的选择必须能满足热对流方式下的正常成形。

综合上述讨论知, 要确保支架的正常成形, 使单层浆料丝冷却固化的耗时不

长于单层扫描的时间，可以采取如下措施：

(1) 适当降低喷头温度 T_N 或者成形室温度 T_E ，或者两者配合调整，以缩短浆料丝的冷却固化耗时。

(2) 适当减缓堆积时的扫描速度 V_S ，以延长单层扫描时间。

(3) 支架模型设计时由一次性堆积单个支架改为一次性堆积多个支架，因为喷头扫描的方式是依次走完每层所有路径，这样就能间接延长单层扫描时间。

考虑前两种措施涉及到的参数 T_N 、 T_E 和 V_S 对血管支架的其他表现特征均有较大影响，在以后的讨论中限制条件过多，这里我们选择第三种方法对数字模型方案四进行改进，一次性堆积 4 个支架（图 3-9）。实验结果表明，改进后的方案足以满足支架正常成形的要求。如图 3-10 所示，所得支架样品壁面完整，成形效果良好。

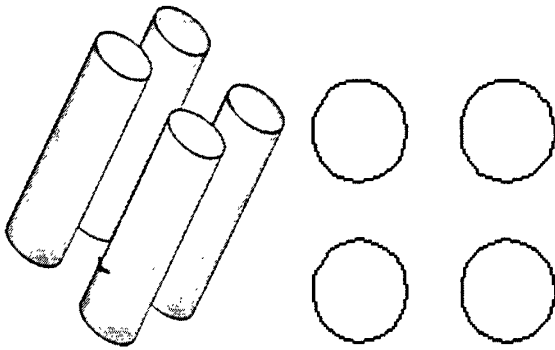


图 3-9 改进后的数字模型方案四

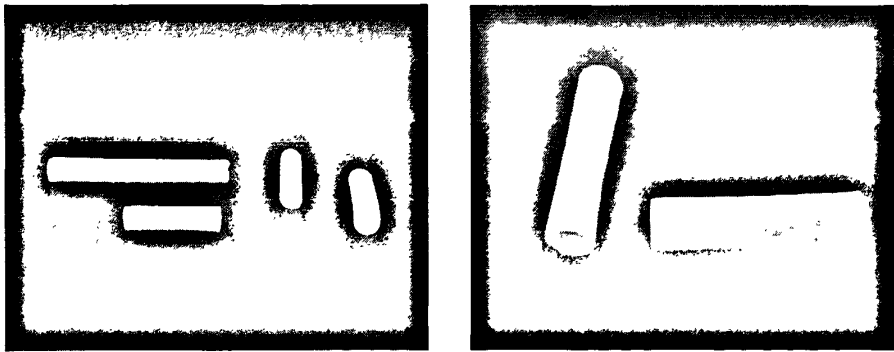


图 3-10 直圆管支架样品

3.4 分支血管支架的制作

分支血管支架的制作，无论是数字模型设计还是实体支架成形，相对于直圆管支架来说都复杂很多。根据直圆管支架的设计成形经验，单一轮廓线的扫描方式虽然在壁厚调控、成形复杂度方面更具优势，但对于浆料挤出速度与喷头扫描速度的匹配则较为苛刻（在后文中会有讨论分析），一旦挤出速度跟不上扫描速度出现断丝现象，就会立刻在实体支架上呈现出明显的缺陷（图 3-11 所示）。所

以相对来说，分层的时候同时采用轮廓扫描和填充扫描，即使偶尔出现断丝现象，但在同一层还会有新的浆料丝来补上缺口，因此可以有效降低成形困难度，提高成形的成功率，这一点对于形态较复杂的分支血管来说尤其重要。单分支血管支架及树状分支血管网支架的数字模型设计如下图 3-12 所示，分层时采用两次轮廓线扫描的方式。

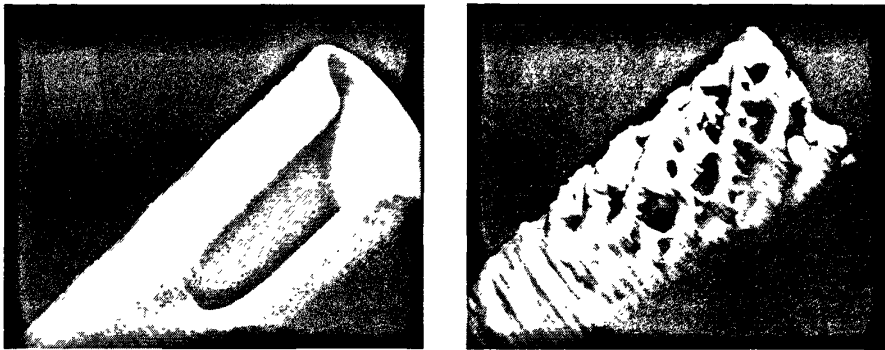
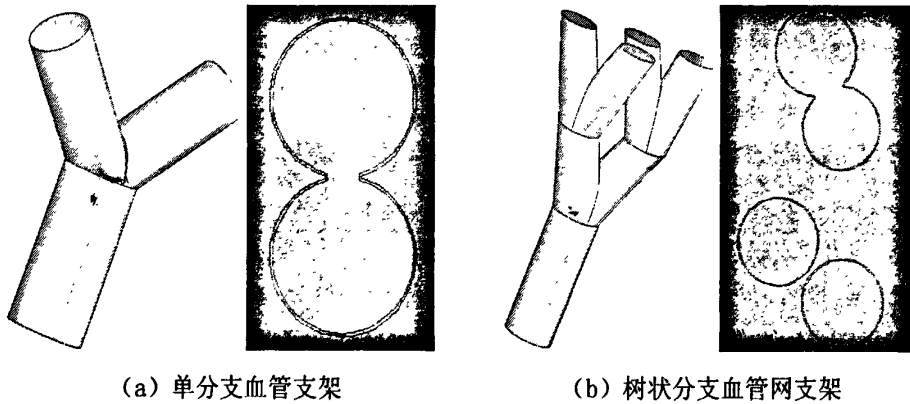


图 3-11 速度参数不匹配造成的成形缺陷



(a) 单分支血管支架

(b) 树状分支血管网支架

图 3-12 分支血管支架数字模型设计

血管分支结构与直圆管结构最大的区别在于分支管中出现了呈一定倾斜角度的结构，这就需要考虑成形过程中是否需要添加支撑结构，以及支架的最优成形方向。如图 3-13 (a) 所示，对于成形实体无法自支撑的悬吊结构和悬吊面，需要为其增加临时的支撑结构，成形完成后支撑结构将被去除。当然也并非所有悬空结构都需要加支撑。若悬空结构尺寸较小，悬面的倾斜角度较小，材料的表面张力足够大，在低温成形室中的凝固速度足够快，挤压的材料还来不及坍塌就已经凝固成形了。对于这种情况，在成形过程中不必加支撑。对于本论文来说，在浆料类型、喷头温度、成形室温度等工艺参数一定时，是否需要添加支撑结构是由分支管的倾斜角度决定的。分支管的倾斜角度，是指其中轴线方向与水平方向的夹角（图 3-13 (b)）。通过实际的成形实验知， 40° 的倾斜角是临界值，当倾斜角度小于此临界值时，就需要添加支撑结构。而支架的成形方向分为先主管再分支管的正向和先分支管再主管的逆向两种方向（图 3-14 (a)），实际成形效果显示正

向成形方向劣于逆向，堆积到分支部位时极易出现如图 3-14（b）中的断丝缺口。

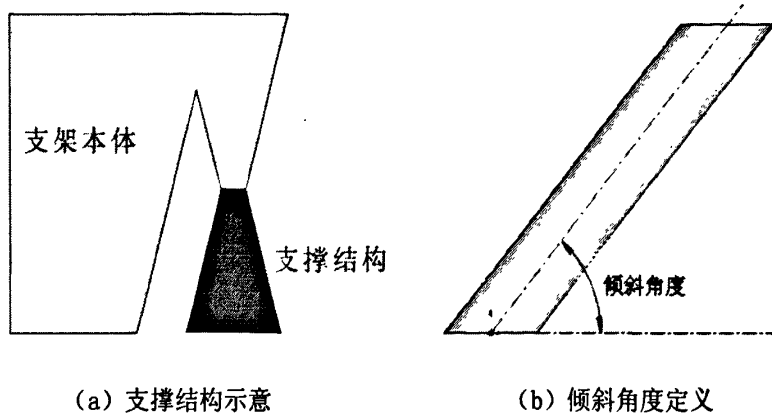


图 3-13 支撑结构

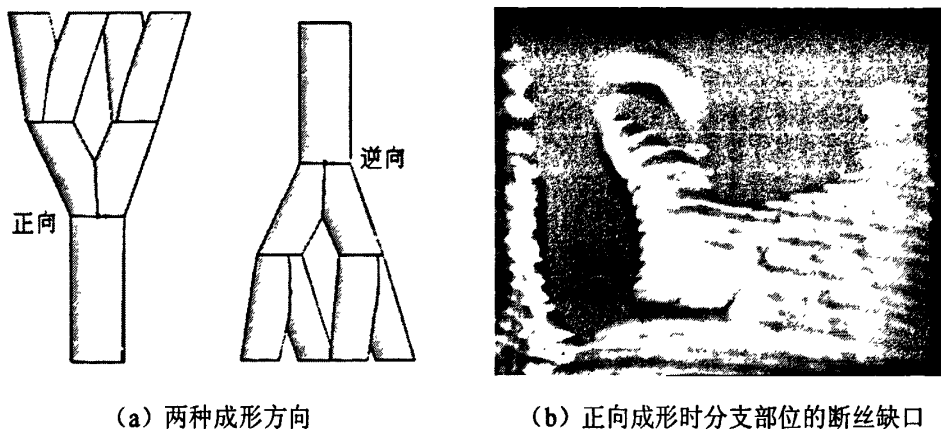


图 3-14 成形方向

根据实验经验，选择逆向作为支架成形方向，所得结果如图 3-15 所示。支架外形轮廓准确地再现了 SolidWorks 绘制的三维模型，壁面完整，结构连续，分支部位连接流畅，内部管道通畅，成形效果良好。

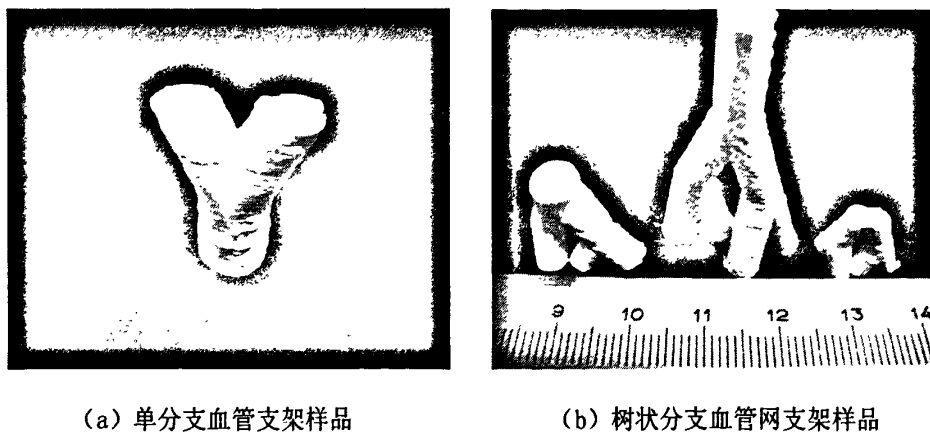


图 3-15 分支血管支架样品

3.5 本章小结

本章介绍了低温沉积制造工艺的系统组成及成形工艺流程，分别针对直圆管支架和分支血管支架进行了数字模型设计及具体的成形实施。着重对浆料丝在成形室中的冷却固化展开研究，就冷却固化时间进行了分析，以指导支架成形方案的改进。良好的支架成形样品表明 LDM 工艺在组织工程血管支架制作领域有着巨大潜力。

第4章 低温沉积制造的成形参数研究

4.1 引言

通过低温沉积制造工艺制作成形的血管支架，其壁厚、微孔结构和壁面粘接等表观特征直接受到成形参数的影响。为了实现对支架表观特征的调控，本章将通过对照组实验分别研究各种成形参数的调控原理。

成形过程中的参数主要涉及：浆料浓度、浆料粘度、层厚、成形室温度、喷头温度、螺杆转速、喷头挤出速度和喷头扫描速度等。各个参数不仅影响成形的结果，同时相互之间也存在着影响与制约，例如浆料浓度会影响其粘度，浆料粘度又关系到喷头出丝速度，而喷头的出丝速度需要与之匹配的扫描速度。

本章以直圆管支架为对象，选择典型的成形参数展开研究。

4.2 影响支架壁厚的成形参数研究

支架拥有适当的壁厚，能够承受来自机体和血液的压力；作为血管移植物植入人体时，与移植部位相匹配的壁厚将更利于其发挥正常作用，因此成形过程中可调控支架壁厚是十分必要的。因为扫描时采取了单线轮廓扫描的方式，那么单线浆料丝在Z方向上累积起来就构成了支架，而浆料丝的截面宽度即为支架壁厚。

4.2.1 壁厚的表征

支架的壁厚测量方案需要兼顾可行性和精确度两方面。因为用 PLLA 或者 PLGA 制作的支架样品具有一定的弹性，且不同样品之间的壁厚差异是在 0.1mm 级别，所以传统的游标卡尺或者直尺这样的测量工具是无法满足要求的。在《中华人民共和国医药行业标准——心血管植入物、人工血管》^[42]（ISO-7198 行业标准）中列举了两种方法及各自所需仪器：

（1）显微测试法

带有刻度的目镜或标尺，目镜交叉瞄准线，测量精度可以达到 0.5 μ m，并且配有照明设备以提供直射或反射照明。

（2）厚度仪测试法

符合 ISO5084 的持续负载厚度仪，压脚面积不小于 0.5cm²，压强不小于 981Pa；或者负载可量的压脚面积和压强符合测试条件的测厚仪。

结合实验室现有的设备条件，本论文采用基于显微图像的图像处理方法测定支架的壁厚。横向截取高 5mm 的管状样品片段，采用 XYH-3A 型三目体式显微镜拍摄截面图像（如图 4-1（a）所示），拍摄时光线从上往下直射，拍摄平面垂直于显微镜的轴。采用图像分析软件 Image-Pro Plus 处理图像以进行壁厚测量，如

图 4-1 (b) 所示, 其中标尺需要均匀分布于整个截面, 并且兼顾壁厚的最厚点和最薄点。

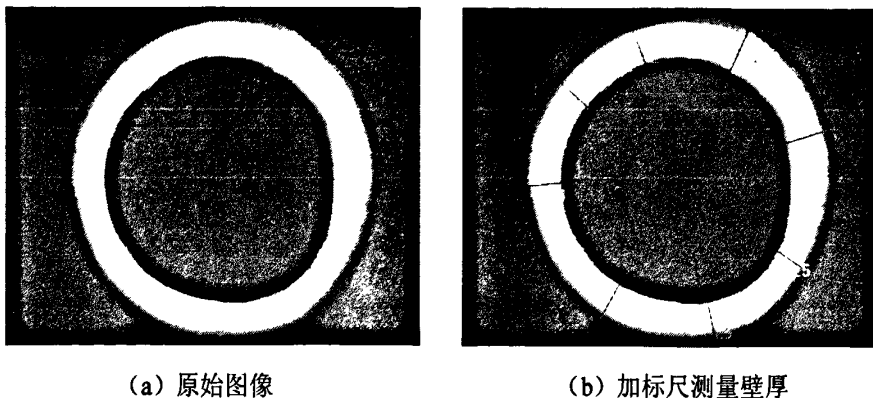


图 4-1 支架壁厚测量

4.2.2 壁厚与速度比参数

在实验中发现, 壁厚会受到螺杆转速与喷头扫描速度之比的调控。

4.2.2.1 浆料丝的截面宽度

考察浆料从喷嘴挤出并沉积成形的过程。浆料以圆形截面自喷嘴挤出, 直径近似于喷嘴直径 (忽略挤出胀大效应), 单位时间内挤出体积为:

$$V_1 = \frac{1}{4} \pi \phi^2 V_N \quad (4-1)$$

式中: ϕ ——喷嘴直径

V_N ——喷头挤出速度

在沉积冷却过程中, 因为浆料丝自身的重力作用和液体流动性, 同时 Z 方向上一一定的压缩, 浆料丝的截面会发生一定程度的变形。对于沉积得到的浆料丝的截面形状, 主要有圆形、矩形和椭圆形几种近似假设, 相对的截面面积 S 的表达式也有如下几种:

$$S = \frac{1}{4} \pi w^2$$

$$S = \frac{1}{4} \pi \Delta h w$$

$$S = \Delta h w$$

综合起来, 浆料丝截面面积可以表示为:

$$S = k \Delta h w \quad (4-2)$$

式中: Δh ——单层浆料丝高度, 即成形层厚, 分层文件制作时确定

w ——单层浆料丝宽度

k ——系数, 当 $k=1$ 时, 截面为矩形; 当 $k=\pi/4$ 时, 截面为椭圆形

为了便于简化公式, 这里假设沉积得到的浆料丝截面为规则的椭圆形, 那么单位时间内沉积的支架体积为:

$$V_2 = \frac{1}{4} \pi \Delta h w V_s \quad (4-3)$$

式中: V_s ——喷头扫描速度

忽略浆料凝固时的密度变化, (4-1) 式与 (4-3) 式是相等的, 联立有:

$$w = \frac{\varphi^2}{\Delta h} \frac{V_N}{V_s} \quad (4-4)$$

因此, 在 φ 和 Δh 固定的情况下, 浆料丝截面宽度是受挤出速度和扫描速度控制的。

4.2.2.2 喷头挤出速度与螺杆转速

在成形过程中, 喷头挤出速度 V_N 是一个重要参数, 但不能直接读取或调整, 需要通过其他参数来表征。

因为不需要将浆料加热熔融, LDM 低温沉积制造工艺中所用的螺杆相比应用于熔融堆积成形的螺杆, 结构上省略了加料段与压缩段, 但前者的挤出量计算仍可以沿用后者的理论。

(1) 浆料的螺杆输送量

根据粘性流体流动理论的推导, 螺杆输送量可由下列简化式算出^[43]:

$$M = \alpha V_L - \frac{\beta \Delta p}{\eta} - \frac{\gamma \Delta p}{\eta} = \alpha V_L - \frac{(\beta + \gamma)}{\eta} \Delta p \quad (4-5)$$

式中: M ——螺杆输送量(体积流量)

V_L ——螺杆转速

η ——浆料粘度

Δp ——螺杆末端与开始处的压力差

$\alpha/\beta/\gamma$ ——正流/倒流/漏流常数, 仅与螺杆段结构尺寸相关

为了简化计算, Δp 常用螺杆末端的浆料压力 (即喷嘴压力) p 代替, 这样计算有一定的误差。此外, 式 (4-5) 中第三项 ($\gamma \Delta p / \eta$) 在螺杆与机筒间隔很小的挤出设备中都小于螺杆输送量 M 的 5%, 故常可忽略不计。系数 α 、 β 和 γ 仅与螺杆结构尺寸有关, 因而当螺杆确定后, 可以认定其为常数。而粘度 η 是一个随浆料和温度不同而变化的系数, 但当浆料与温度确定后, η 也可认为是一常量。

如果以 M 与 p 为坐标作图, 即可得到一条直线, 如图 1 (a) 中所示直线①, 其斜率为 $(- (\beta + \gamma) / \eta)$ 。这一直线表达了螺杆的几何特性, 故称螺杆段特性曲线。

(2) 通过喷嘴的浆料流量

在上一标题中讨论了当螺杆旋转时, 螺杆对浆料的输送能力; 但是从螺杆输送出来的浆料必须通过喷嘴才能完成挤出成形, 所以还得考虑喷嘴的工作压力。

浆料通过喷嘴的流量公式:

$$M = \frac{\Phi p}{\eta} \quad (4-6)$$

式中： M ——通过喷嘴的体积流量

P ——浆料通过喷嘴的压力

Φ ——喷嘴常数（仅与喷嘴的大小和形状有关）

η ——浆料粘度

这一方程中，当喷嘴、浆料确定后， Φ 和 η 均为常数。以 M 和 p 作图，仍然可以得到一条直线，如图 4-2 (a) 中②所示，其斜率为 Φ/η 。这一直线表达了喷嘴的特性，故称喷嘴特性曲线。

(3) 综合工作点

从图 4-2 (a) 中所示喷嘴特性曲线可以看出，喷嘴压力 p 增加时，挤出量 M 也增大；但在螺杆特性曲线中 p 增加时， M 则减小。当 p 等于 0 时（即没有安装喷嘴时）， M 达到最大值 M_{max} ，而当 p 达最大值 p_{max} 时（这相当于将喷嘴完全堵塞）， $M=0$ （此时正流流量等于倒流和漏流的流量之和）。但挤出成形的正常工艺流程是配有喷嘴的，故其综合工作点应是螺杆特性曲线与喷嘴特性曲线的交点，即图 4-2 (a) 中所示 A 点，此时挤出量为 M_0 ，工作压力为 P_0 。

另一方面，螺杆特性曲线会随着 V_L 的变化而左右移动，那么综合工作点也会随之沿着直线②移动，如图 4-2 (b) 中所示。可以看出， M_0 与 V_L 成正比关系。联立(4-5)式与(4-6)式，推出：

$$M_0 = \frac{\Phi \alpha}{\beta + \gamma + \Phi} V_L \quad (4-7)$$

单位时间内的浆料挤出量可以表示为：

$$M_0 = S V_N \quad (4-8)$$

式中： S ——浆料丝截面面积

联立(4-7)式与(4-8)式，推出浆料丝的挤出速度与螺杆转速之间的关系式：

$$V_N = \frac{\Phi \alpha}{(\beta + \gamma + \Phi) S} V_L \quad (4-9)$$

显然， V_N 与 V_L 成正比。将(4-9)式代入(4-4)式，并设

$$\chi = \frac{\Phi \alpha}{(\beta + \gamma + \Phi) S}$$

则有：

$$w = \frac{\varphi^2 \chi}{\Delta h} \frac{V_L}{V_S} \quad (4-10)$$

这样, 浆料丝截面的宽度就用螺杆转速 V_L 与喷头扫描速度 V_S 表示出来了, 而这两个参数均为实验中可以直接读出的。

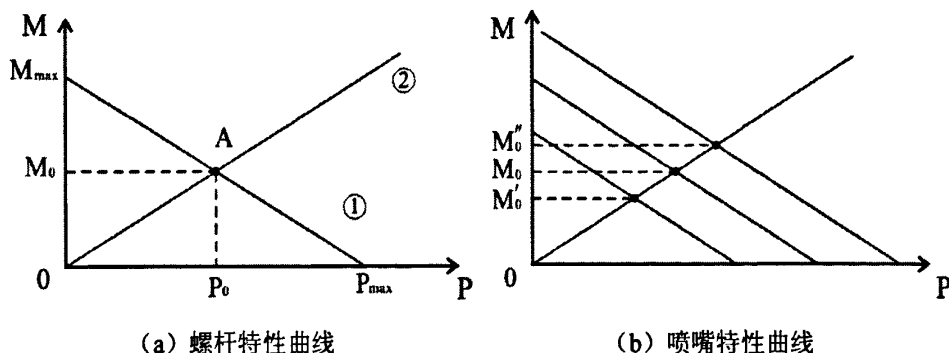


图 4-2 挤出特性曲线

4.2.2.3 螺杆转速与喷头扫描速度的匹配

由上述推导出, 螺杆转速 V_L 与扫描速度 V_S 之比是影响壁厚的主要参数, 但在实际成形过程中, 如何调整 V_L 与 V_S 以获得不同的速度比会受到其它因素的影响和制约, 二者需要谨慎调节以相互匹配。

浆料被挤出瞬间的初始速度包括竖直方向的挤出速度 V_N 和水平方向的扫描速度 V_S , 在 Δt 时间后变为 0, 因此, 需要提供相应的作用力 F 来平衡这一动量变化^[6]:

$$\bar{F}\Delta t = \Delta m(\bar{V}_N + \bar{V}_S) \quad (4-11)$$

某一浆料单元受力情况中, $F_1(t)$ 为与之相邻的下层浆料丝所提供的支撑力, $F_2(t)$ 为同层浆料丝所提供的粘性力。则在整个运动过程中, 可得出如下的计算公式:

$$\begin{cases} \int (F_1(t) - \Delta mg) dt = \Delta m V_N \\ \int F_2(t) dt = \Delta m V_S \end{cases} \quad (4-12)$$

在此过程中, Δm 、 V_N 和 V_S 可视为恒定值, $F_1(t)$ 、 $F_2(t)$ 和 Δt 则为可变量。

假设浆料从喷嘴挤出后, 在冷冻固化过程中可以被拉伸。由于液体浆料被挤出后温度迅速下降, 粘度升高较快, 因此其拉伸过程的受力不能忽略, 假设这一过程为弹性变形, 则需要同层浆料丝提供的粘性力为:

$$F_x = E\Delta hw \cdot \ln \frac{V_S}{V_N} \quad (4-13)$$

式中 E 是弹性模量, 与浆料属性、喷头温度等因素有关, 且在拉伸过程中为可变量, 随挤出时间的增加而逐渐增大。

结合 (4-12) 和 (4-13) 考虑, 发现挤出浆料所受到粘性力由两部分组成, 分别用于改变自身的形状 (F_x) 和沿扫描方向的速度 ($F_2(t)$)。其中 $F_2(t)$ 的估算公式为:

$$\begin{cases} \overline{F_2}=\rho w\Delta hV_S^2 \\ F_{2max}=B\overline{F_2}=B\rho w\Delta hV_S^2 \end{cases}$$

(4-14)

式中： $\overline{F_2}$ ——平衡水平方向冲量的平均粘性力
 F_{2max} ——考虑成形过程扰动的最大粘性力
 B ——扰动系数
 ρ ——浆料密度

由式（4-13）和（4-14）可得出，浆料在从喷头挤出过程中，单位浆料丝所需要提供的最大粘性力为：

$$\delta=\frac{F_x+F_{2max}}{w\Delta h}=E\ln\frac{V_S}{V_N}+B\rho V_S^2$$

(4-15)

液体所能提供的粘性力大小取决于其粘度，且前文已推导出 V_N 与 V_L 成正比，那么由上式可以做出判断：

- (1) 浆料的粘度越小，需要的螺杆转速 V_L 与扫描速度 V_S 之比越大，允许的 V_S 越小。
- (2) 浆料粘度越大，越有可能被拉伸，允许的最小浆料丝截面宽度 w_{min} 越小，即可成形的最小壁厚越小；粘度越小，同样扫描速度 V_S 的条件下，需要更大的螺杆转速以保证成形，而最小壁厚越大。
- (3) 对于同样粘度的浆料，扫描速度 V_S 越小，越有利于浆料丝的拉伸，即最小壁厚越小。

如果把速度比(V_L/V_S)看成一个整体，则表达式(4-10)为一维线性表达式，斜率为 $\varphi^2\chi/\Delta h$ ，而速度比则是影响浆料丝截面宽度的主要因素。在其它参数固定的情况下，仅调整速度比制作 PLLA 支架，其壁厚测量结果如表 4-1 所示。在有效的速度比范围内，支架壁厚是随着速度比的提高而增加的。以支架壁厚和速度比(V_L/V_S)为坐标作图（图 4-3 所示），并进行线性拟合，相关系数的平方值为 0.9963，成良好线性，与（4-10）式描述相符合。此外，受速度比的调控，支架壁厚可以从 300 μ m 变化到 600 μ m，可选择范围广，能很好地满足个性化血管支架制作对于壁厚的要求。

表 4-1 不同速度比(V_L/V_S)对支架壁厚的影响

样品组数	1	2	3	4	5
V_L (r/s)	0.4	0.4	0.6	0.8	1.0
V_S (mm/s)	14	10	10	10	10
V_L/V_S	0.029	0.040	0.060	0.080	0.100
支架壁厚(μ m)	339.05	366.03	424.37	481.39	554.07
标准偏差(μ m)	22.78	28.70	21.07	18.21	26.97

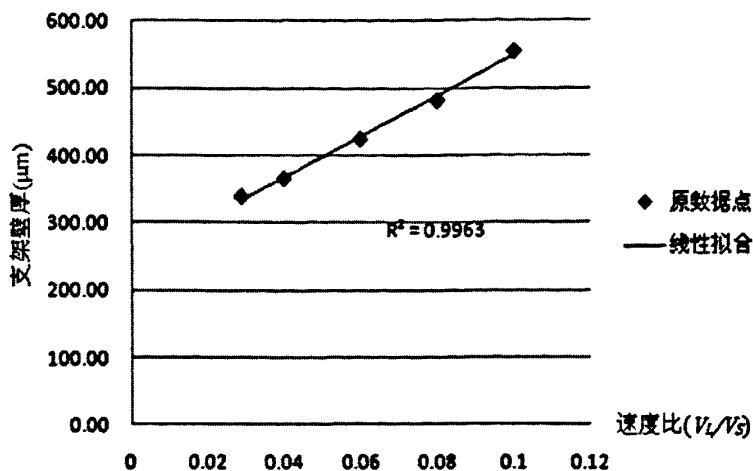


图 4-3 支架壁厚与速度比 (V_L/V_S) 关系图

4.2.3 壁厚与温度参数

如前文所讨论，温度参数会直接影响浆料丝的冷却固化速度；而浆料丝由液态到固态这一固化过程的时间长短，会对其截面宽度产生不同影响，进而影响支架壁厚。在 LDM 工艺中，温度参数包括喷头温度 T_N 和成形室温度 T_E ，任意一个对浆料丝冷却固化的影响效果是一样的，本论文固定成形室温度，选择喷头温度 T_N 作为讨论对象。

快速成形技术的基本原理在于将二维的浆料丝层面堆积制造出三维实体，其中，层与层之间的粘接强度将会直接影响所成形的三维实体的功能，尤其是其力学方面的性能。为了保证支架上下层之间良好的粘接，浆料丝在 Z 方向上需要有足够的压缩，因此 CAD 模型分层时的层厚 Δh 均小于喷嘴直径。而 Z 方向上的压缩以及自身的流动性、重力作用，会使得浆料丝在完全固化前，产生沿水平方向的展布。如图 4-4 所示，在成形过程中，浆料丝从喷嘴挤出瞬间，温度为 T_N ，截面形状是圆形(直径近似于喷嘴直径)；经过 Δt 时间后，浆料丝冷却固化，温度为 T_S ，截面形状发生改变：高度方向尺寸变小为 Δh ，宽度方向尺寸变大。随着喷头温度的升高，浆料丝的冷却固化速度变慢，导致不同程度的水平展布。

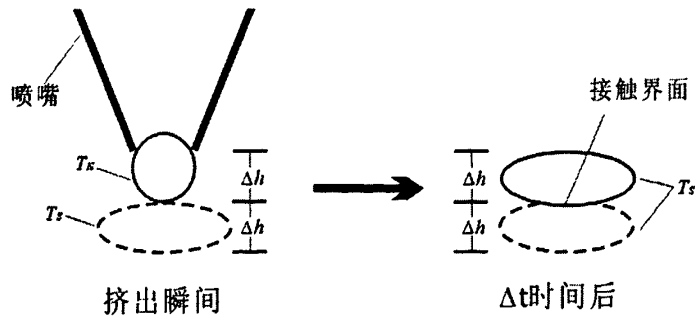


图 4-4 浆料丝的水平展布

在其它参数固定的情况下，仅调整喷头温度 T_N 制作 PLLA 支架，其壁厚测量结果如表 4-2 所示。从第 2 组数据到第 6 组数据，喷头温度从 20℃逐步升高到 40℃，而所对应的支架壁厚也是逐步增加的。但是就增长幅度来看，相对速度比对壁厚的影响，温度影响没有那么强烈。

特别的，当喷头温度为 15℃时，浆料刚出喷嘴即以小液滴的形状固化，无法以连续浆料丝的形式挤出成形，因而无法取得有效数据。实际上，LDM 成形工艺中的喷头温度是有一个有效范围的，即存在着温度上、下限。温度偏低时，会妨害支架壁面的粘接强度，这在后文中会进行讨论分析。如果过低的话，就会发生上述浆料自喷嘴挤出就以小液滴形状固化的情况，导致无法正常成形；而这个温度下限，一般视有机溶剂的熔点及成形室温度而定。相反的，如果温度偏高，在成形室温度一定的条件下，将需要提供更多的时间以完成浆料丝的冷却固化；而即使时间足够，浆料丝的水平展布也会愈加明显，不利于对壁厚进行调控。当温度过高时，甚至会改变高分子材料的物理性能。

表 4-2 不同喷头温度 T_N 对支架壁厚的影响

样品组数	1	2	3	4	5	6
	15	20	25	30	35	40
喷头温度(℃)						
支架壁厚(μm)	—	315.74	346.75	381.12	403.42	441.00
标准偏差(μm)	—	17.21	20.00	27.43	18.57	16.20

4. 3 影响支架微孔结构的成形参数研究

组织工程支架要求具有合适的孔隙结构，以利于细胞的生长、细胞外基质的形成和养分的交换。因为血管支架只有一个管壁，其孔隙结构主要来源于支架壁面上的微孔。

对于 LDM 工艺，微孔的形成机理是：在低温成形室中，从喷嘴挤出的浆料丝在逐步冷却固化的过程中发生了相分离，形成富聚酯相(高分子材料相)和穷聚酯相(溶剂相)；然后在冷冻干燥过程中，溶剂的升华使得冷冻支架的溶剂区形成了微孔结构。微孔的形态复制了溶剂的结晶形态，而溶剂的结晶形态会随着浆料的浓度和作用于浆料丝的温度梯度^[44]而改变，那么影响微孔结构的工艺参数主要包括：

(1) 喷头温度

支架成形过程中，在相同的成形室温度条件下，喷头温度 T_N 越高，浆料丝冷

却固化速度越慢,形成的两相尺寸越大,则溶剂结晶越大,微孔也就越大。图 4-5 对比了在不同的喷头温度 T_N 下所成形的 PLLA 支架的微孔结构。在其它工艺参数相同的情况下,随着 T_N 的升高,微孔数量越来越少,尺寸越来越大。微孔尺寸在常用喷头温度范围内一般小于 $10\mu\text{m}$,在 T_N 达到 40°C 时可见部分大于 $10\mu\text{m}$ 的孔隙结构。

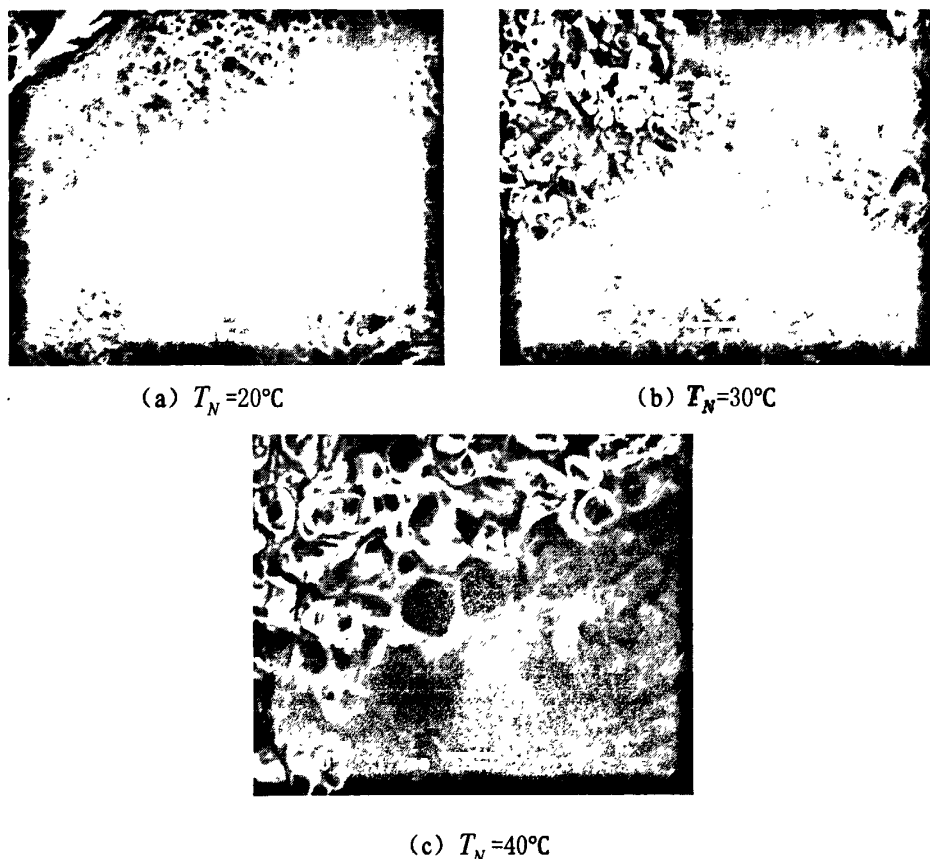


图 4-5 不同喷头温度对壁面微孔结构的影响

(2) 浆料浓度

随着浓度的增加,浆料中所含有的溶剂比重减少,微孔的尺寸逐渐变小,而孔与孔之间的壁则是逐渐变厚的。统一其余的工艺参数,将不同浓度(质量/体积)PLGA/1,4-二氧六环浆料制作成支架,其微孔结构如图所示。从图 4-6 中可以看出,浆料浓度为 9% 的支架比浓度为 4% 的支架微孔尺寸更小,孔壁更厚,甚至出现了大面积的实体壁。

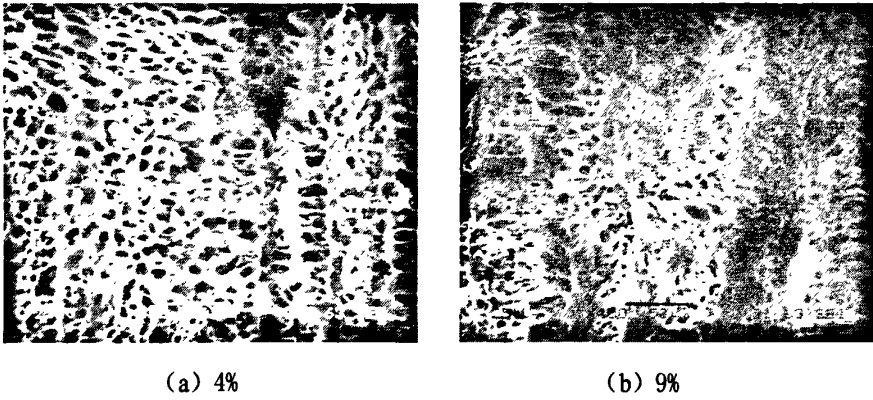


图 4-6 不同浆料浓度对壁面微孔结构的影响

4.4 支架壁面粘接问题研究

血管支架只有单一的壁结构，其力学性能完全以壁面为支撑，因此壁面的粘接强度将直接影响到所成形支架的功能。本论文中支架是单线浆料丝在 Z 方向上的累积，壁面的粘接即浆料丝之间的粘接。

4.4.1 浆料丝的粘接机理

LDM 工艺中相邻两层浆料丝之间的粘接，实际上是一个以扩散机理为主导的熔融自粘接过程：从喷嘴挤出的浆料的初始温度(即喷头温度 T_N)高于已成形浆料丝的凝固点，因此会熔融与其相接触的已固化浆料丝的表面；然后两层浆料丝互相浸润，分子扩散；当接触表面再次固化时，扩散过程结束，即实现了浆料丝之间的粘接。

特别的，浆料是由聚酯溶解于特定溶剂所值得，其中聚酯的分子量远大于溶剂的分子量，则其扩散系数远小于后者^[45]，因此扩散过程可以分为两个阶段。第一阶段为溶剂分子的扩散阶段，此时聚酯分子的扩散并不明显；第二阶段是决定浆料丝之间粘接强度的关键阶段，即聚酯分子的扩散阶段，此时溶剂分子已经基本得到了充分的扩散。

4.4.2 壁面粘接与温度参数

根据浆料丝的粘接机理，扩散时间是影响粘接效果的核心要素。扩散时间就是浆料丝冷却固化过程的耗时长度，决定于浆料的扩散系数、初始温度、传热系数和凝固点等因素，当成形材料确定时，温度参数即为控制壁面粘接效果的关键因素。

扩散时间会随喷头温度 T_N 的升高而延长。在分层厚度 Δh 恒定的前提下， T_N 在整个扩散过程中对壁面粘接的影响为(图 4-7 所示)：已固化的浆料丝表面从微观上看是凹凸不平的， T_N 越高，则 1) 浆料丝接触面处的熔融越厉害，浸润面积越大；2) 浆料丝冷却固化时间持续越长，两层之间的分子扩散越充分；3) 浆料丝在自身的重力及流动性作用下，在未固化前产生的沿 Z 方向的垂直展布越明显。

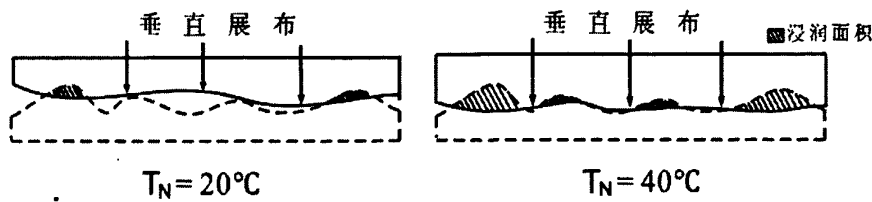


图 4-7 不同喷头温度下相邻浆料丝之间的浸润

其中，垂直展布程度的不同，将直接导致浆料丝形态上的差异。如图 4-8 (a~c) 所示为不同喷头温度下制作的 PLLA 支架，选择相同高度所拍图像。(a) 中的每层浆料丝均有明显外凸的形状，(b) 中外凸趋势稍缓，而 (c) 中则最为平缓。从 (a) 至 (c)，成形过程中的喷头温度升高，支架壁面的浆料丝外凸形状趋于平缓。此外在成形过程中，因为传热方式不同而导致同一支架底部与顶部的冷却固化时间不等，也会造成浆料丝外凸形状的差异 (图 (d, e) 所示)。显然，底部浆料丝的扩散时间较顶部更少，其外凸形状更明显。

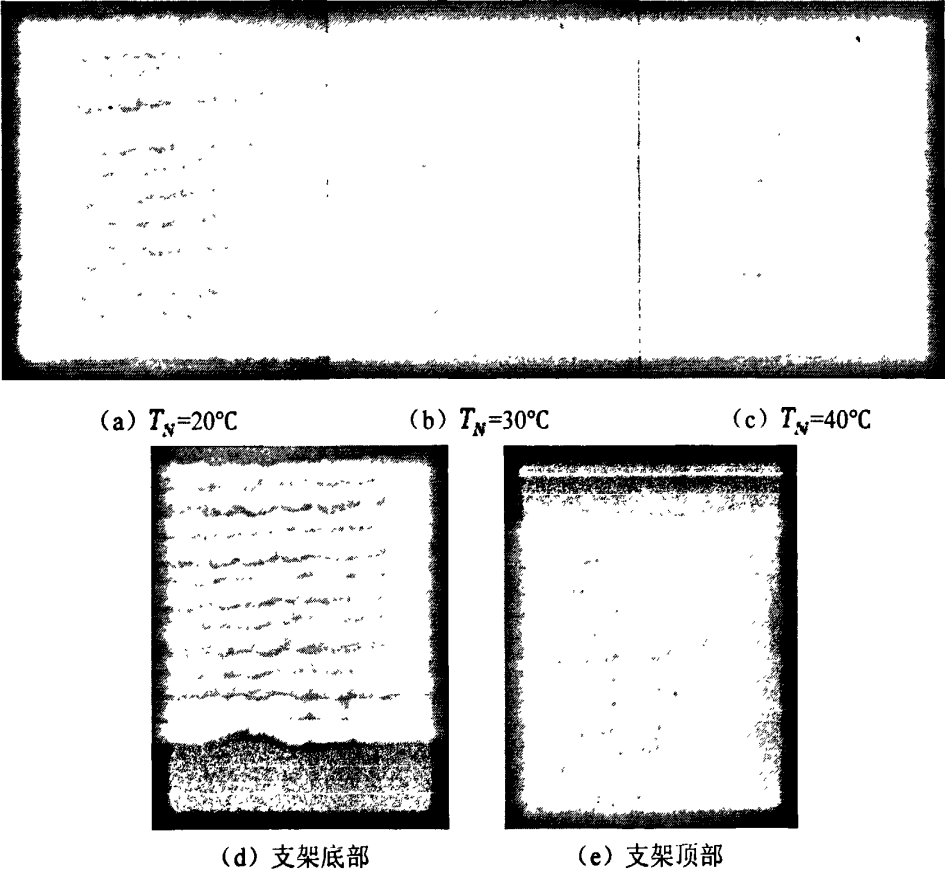


图 4-8 不同扩散速度对浆料丝形状的影响

扩散程度将直接关系到支架的粘接强度。扩散充分时，扩散过程的两个阶段都顺利完成，溶剂分子和聚酯分子均充分扩散，浸润面积大，相邻浆料丝的接触面十分完整，基本不存在粘接断点 (图 4-9 (a))。而扩散不充分，又可分为低

粘接强度和伪粘接两种情况。低粘接强度状态下，浆料丝之间的扩散虽进行到聚酯扩散阶段，但聚酯分子扩散不充分，且浸润面积少，浆料丝之间的粘接存在不连续现象，可见明显的孔洞形式的断点（图（b,c）中箭头指示处）。在伪粘接状态下，扩散时间严重不足，浆料丝之间的扩散仅仅进行到溶剂扩散阶段，在低温成形室中虽然能继续成形，但是经过冷冻干燥处理后，浆料丝之间易发生剥离，如图（d）所示。

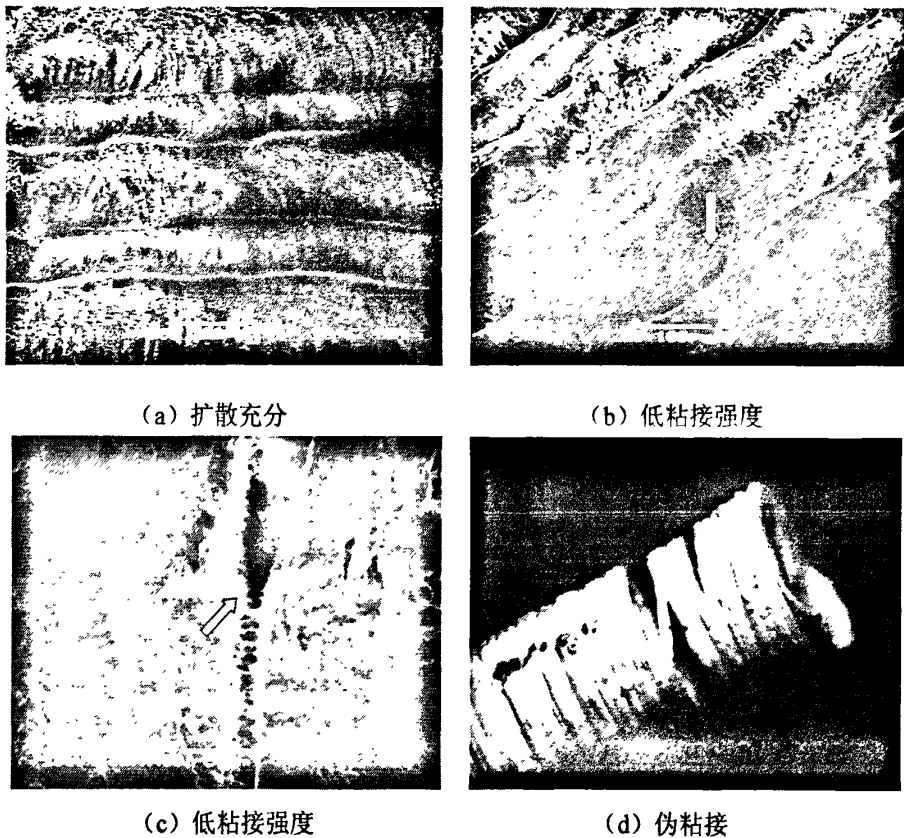


图 4-9 壁面粘接强度

4.5 本章小结

本章以直圆管血管支架为对象，研究了低温沉积制造工艺中，成形参数对支架壁厚、微孔结构和壁面粘接等表现特征的调控。

(1) 在其它成形参数相同时，支架壁厚会随着螺杆转速与扫描速度之比(V_L/V_S)的提高而增加，且在有效速度比范围内，对此二者进行线性拟合，相关系数的平方值为0.9963，成良好线性。经过速度比参数的调控，支架壁厚的变化范围为300 μm ~600 μm ，具有较宽的调整区间，能很好地满足个性化血管支架制作对于壁厚的要求。

(2) 在其它成形参数相同时，因浆料丝的水平展布，支架壁厚会随着喷头温度的升高而增加。在有效喷头温度范围内，壁厚的变化范围从300 μm 到450 μm 。但

是就壁厚的增长幅度来看，相对速度比的影响，温度影响没有那么强烈。

(3) 在其它成形参数相同时，喷头温度越高，支架壁面的微孔尺寸越大，但数量越少。微孔尺寸在常用喷头温度范围内一般小于 $10\mu\text{m}$ ，在温度达到 40°C 时可见部分大于 $10\mu\text{m}$ 的孔隙结构。

(4) 在其它成形参数相同时，浆料浓度越大，支架壁面的微孔尺寸越小，孔与孔之间的壁越厚。

(5) 支架壁面浆料丝之间的粘接，是一个以扩散机理为主导的熔融自粘接过程。在有效喷头温度范围内，温度越高，浆料丝的扩散过程越充分，则壁面粘接强度越好。当扩散不够充分时，相邻浆料丝的粘接会出现低粘接强度和伪粘接两种情况。

在具体应用中，应对各方因素加以平滑，设计出最合理的成形参数值，以成形符合实际需求的支架。

第5章 支架的物理特性和生物相容性研究

5.1 引言

利用LDM工艺可以成形预设形状的血管支架，而支架的表现特征也可以通过成形参数来调控，但一个成功的组织工程支架还需要有适宜的物理特性和良好的生物相容性。本章主要对支架的孔隙率、水渗透性和力学性能等支架的物理特性进行表征方法介绍及实验评测，并通过在直圆管支架上培养大鼠脂肪干细胞来检验支架的生物相容性。

5.2 支架孔隙率和水渗透性的表征与调控

支架的孔隙率，是指支架中孔的体积占支架表现总体积的百分比，用 ϵ 表示。研究表明，支架的孔径、孔隙率与排列等特性会影响细胞的黏附与生长。当支架的孔隙率为90%、孔径为100~300 μm 时，最有利于细胞黏附与基质合成。同时，在人工血管的研究中也发现，血管植入宿主体内后，外膜细胞可以通过管壁的孔洞进入其内腔面，替代纤维素膜并形成以胶原纤维为主的相对光滑、不易形成血栓的“内膜层”，此反应对减少血源性感染及维持低流量人工血管通畅具有重要意义。

相对的，血管移植物作为血液流通的管道，当管壁具有较高的孔隙率时，又承受着一定的脉动压力，就有血液渗漏的危险。在ISO-7198行业标准中定义了渗透性作为血管移植物渗透性能的表征指标。渗透性是指管壁透过某种液体的能力，一般用水渗透性表征。它反应了血管移植物植入体内后，尤其是刚刚植入体内后管壁对血液的抗渗透性能，其数值的大小决定移植物在植入前是否需要预凝处理，以及植入后是否易发生血肿等并发症，是一项重要的表征指标^[46]。同时，研究水渗透性还能从反方向证明支架壁面的微孔呈现开孔结构，完全可以进行血管内外的气体、养料交换。

对于血管支架而言，达到生物性孔洞和物理性孔洞的相对平衡，是保障血管移植物近、远期通畅的重要条件。因此，血管支架的孔隙率和渗透性是两个相关联的表现指标，一般放在一起讨论。

5.2.1 表征方法

5.2.1.1 孔隙率的表征方法

在行业标准中推荐孔隙率的测定方法可以选择孔隙面积法和孔隙重量法，在实际应用中，从这两种基本方法又派生出更多的方法。

(1) 压汞法^[47]

压汞法是测定孔隙率的经典方法，可以测量孔径分布、孔隙率、比表面积，

并能从降压时排除汞的情况来推测不规则孔的孔形状。测试时利用专业的压汞测孔仪，其操作简单且迅速。

(2) 比重瓶法^[47]

将比重瓶装满酒精称重 W_1 ，把重 W 的样品浸入酒精中，反复脱气，务必使酒精充盈于孔中。然后再加满酒精，称重为 W_2 ；将浸满酒精的样品取出，剩余的酒精与比重瓶称重 W_3 。样品孔隙率表示为：

$$\varepsilon = (W_2 - W_3 - W) / (W_1 - W_3)$$

(3) 体积法^[48]

取一带刻度的圆筒加入 V_1 体积的酒精，把表观体积为 V_2 的样品完全浸没于其中，重复进行抽真空——加压步骤以保证酒精充满孔中，此时圆筒读数为 V_3 。样品孔隙率表示为：

$$\varepsilon = (V_1 + V_2 - V_3) / V_2$$

(4) 密度法^[49]

重 W 的样品表观体积为 V ，则其表观密度 $\rho_1 = W/V$ 。假设样品所用材料的密度为 ρ_2 ，那么样品孔隙率表示为：

$$\varepsilon = 1 - \rho_1 / \rho_2$$

(5) 称重法^[50]

将样品称重(W)并测量其表观体积(V)，一个装满密度为 ρ 的酒精的瓶子重(W_1)。将样品放入酒精瓶中，反复抽真空直至不再冒气泡，小心清理掉溢出来的酒精，再将酒精瓶补满，称重为 W_2 。那么样品的孔隙率表示为：

$$\varepsilon = 1 - (W_1 + W - W_2) / \rho V$$

(6) 显微分析法

尽量平整地截取样品的观察截面，调整其与镜头平面平行并拍下清晰的显微图像。在图像中分别测量计算出样品截面的总面积 $S_1(\text{cm}^2)$ 和其中所包含的孔隙面积 $S_2(\text{cm}^2)$ 。样品的孔隙率表示为：

$$\varepsilon = S_2 / S_1$$

5.2.1.2 水渗透性的表征方法

支架的水渗透性分为两个表征指标：1) 整体水渗透性，测试在120mmHg的静压力下，单位时间内透过整个支架管壁或其具有代表性管段的水流量，单位为 $\text{ml} / \text{cm}^2 / \text{min}$ ；2) 截面水渗透性，测试在120mmHg的静压力下，单位时间内透过样品单位面积上的水流量，单位为 $\text{ml} / \text{cm}^2 / \text{min}$ 。

(1) 整体水渗透性

周飞^[19]等利用图5-1(a)所示的装置测量聚氨酯血管支架的整体水渗透性。装置主体为一根玻璃管，用以提供163cm的水柱表征120mmHg的静压力。为了保证

实验过程中压力不变，即保持水柱高度的稳定，利用橡胶管连通自来水龙头和玻璃管，根据实验过程中玻璃管内水面下降的快慢，调节水龙头输水量的大小，使水面始终维持在163cm的标记处。

实验前先将支架样品在水中润湿，然后套在玻璃管下端的样品接口处。打开控制阀门，利用水排出样品官腔内的空气后关闭阀门，接着用止血夹将样品的另一端封死。再次打开阀门的同时开始计时，测量在单位时间内通过样品壁面的水的体积。实验过程中样品的有效长度即接口处跟止血夹之间的长度。

(2) 截面水渗透性

赵书尧^[51]等利用图5-2 (b) 所示的装置来测量织物人造血管的截面水渗透性。装置主体为一根透明水管，提供163cm高的水柱管表征120mmHg的静压力。为了保证实验过程中压力不变，用U型管将一个大水槽和水管连通，由于大水槽的面积很大，而实验时水管内水面下降很少，这就保持了水压的基本稳定。

实验前剪取0.80cm²的织物作为样品，将其固定在出水口处，在打开出水控制阀门的同时开始计时，测量单位时间内通过样品的水的体积。在测量时需使用蒸馏水，否则水里含有的杂质可能会堵塞布样孔隙，影响实验结果。

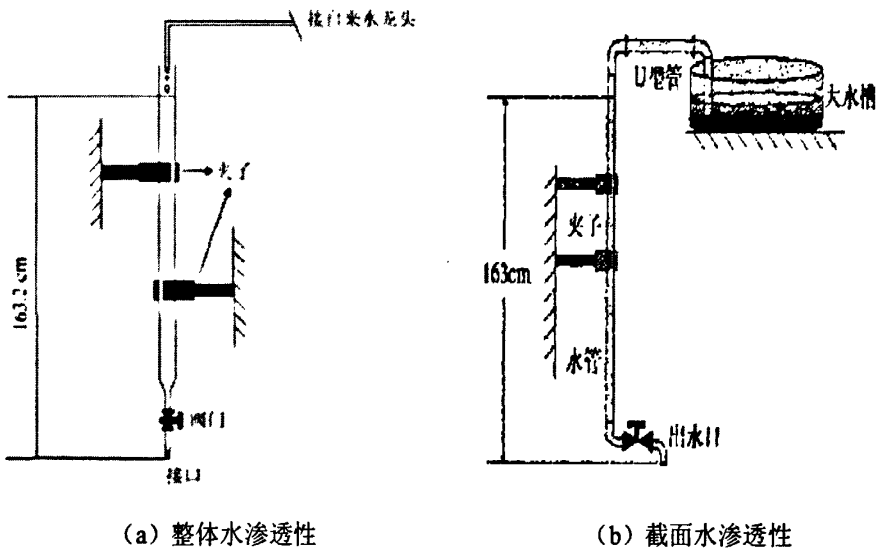


图5-1 水渗透性测试方法

5.2.2 实验及讨论

支架的孔隙率与水渗透性均与壁面的微孔结构有关，本论文中设计制作了不同浆料浓度、喷头温度的PLGA支架，选择比重瓶法和整体水渗透性测试方法分别对支架的孔隙率和水渗透性进行表征。每组测试3个样品，测量值用“均值±标准偏差” (Mean ± SD) 表示，用SPSS17.0进行统计学分析。实验结果如表5-1所示。其中孔隙率测试时，根据样品的实际尺寸将比重瓶法进行了适当的调整：选用1ml的注射器装满乙醇称重W₁；截取10mm长的支架样品，称重W，将其投入注射器，

保证完全浸没于乙醇中；堵住注射器出口，反复推拉活塞，利用负压将样品孔隙中气体排出，使乙醇充盈其中，然后再将注射器注满乙醇，称重为W₂；把浸满了乙醇的样品取出后，剩余的乙醇与注射器称重W₃。样品支架孔隙率为：

$$\varepsilon = (W_2 - W_3 - W) / (W_1 - W_3)。$$

表5-1 支架孔隙率及水渗透性表征

编号	1	2	3	4
浆料浓度(w/v) (g/ml)	4/100	4/100	6/100	9/100
喷头温度(℃)	30	20	20	20
孔隙率(%)	91.53±0.38	90.14±0.83	85.55±0.21	82.04±1.08
水渗透性(ml/cm ² /min)	116.5±1.06	84.63±1.23	53.73±1.55	15.13±0.84

从上面的测量结果可以看出：

(1) 支架的孔隙率能达到82%以上，基本符合组织工程支架对于孔隙率的要求。对于水渗透性，虽然没有明确的水渗透性合格范围的规定，但是国内外的研究报告中有关水渗透性的测试值均在40 ml/cm²/min以下，因此当浆料浓度为4/100时所制得支架的水渗透性在80 ml/cm²/min以上，明显偏高。

(2) 支架的孔隙率随着浆料浓度的增加而逐渐减小。统计学分析表明，不同浆料浓度的支架，其孔隙率存在显著差异 (P<0.05)。

(3) 随着喷头温度的降低，支架的孔隙率略有减少。统计学分析表明，不同喷头温度条件下制得支架的孔隙率并无显著差异 (P>0.05)。由前文可知，壁面的微孔结构可以经由喷头温度和浆料浓度来调控。喷头温度越高，微孔尺寸越大，但数量越少；浆料浓度越大，微孔尺寸越小。支架的孔隙来源于溶剂挥发后留下的空间，浆料浓度增大了，溶剂的比重自然下降，其挥发后留下的空间也就变小，那么孔隙率也会减少。而喷头温度的升高，虽然会增大微孔尺寸，但无法改变溶剂挥发后留下的空间大小，自然也无法影响孔隙率的大小。造成测量值随喷头温度升高而增加的原因，是微孔尺寸越大则孔隙内更容易充盈乙醇。

(4) 喷头温度升高时，支架的水渗透性随之增大；而浆料浓度增加时，水渗透性随之减小。水渗透性受这两种参数影响，产生的变化幅度很大 (P<0.05)。对于血管支架，微孔尺寸的大小，会直接影响到壁面的通透性。

5.3 支架力学性能的表征与调控

在自体血管重建完成前，整个组织工程血管移植物的力学支撑需要支架提供。作为理想的血管支架，必须具有与宿主健康血管相近的力学性能，且在整个移植期间表现稳定。因此，有必要对血管支架在体外的力学性能进行合理、准确的评价和表征，以最终实现体内力学性能的可预测性^[52]。

5.3.1 血管支架力学性能要求

血管移植物与宿主血管的管道吻合通过手术线缝合而成,因此,应确保血管支架边缘在移植手术中能承受手术线的拉伸负荷。植入体内后,血管移植物血流动力学环境下工作,要求血管支架能够承受体内血流的压力,血流压力在一定范围内波动也不会导致支架破裂;并且表现出与移植部位的正常生理血管相近的粘弹性,能收缩和舒张。为此,行业准则中制定了一系列力学性能的测试项目,以保证血管支架达到使用要求。测试项目包括:

(1) 拉伸强度,是指血管支架产生最大均匀塑性变形的应力,在实验中,样品被拉伸直至断裂时所受的最大应力即为拉伸强度。

(2) 缝合强度,是指缝合手术线从血管支架中抽出或者将管壁拉坏时所需的力,它关系到缝合手术的难易和吻合处连接的牢固程度。

(3) 爆破强度,又称缝合保留实力,是指血管支架在承受渐升压力至爆破时的压力,是表征支架耐压性的一个力学性能。血管支架在脉动血流的环境下长期工作,人体内正常的收缩压为12.0kPa~18.7 kPa,舒张压为8.0kPa~12.0 kPa,那么血管支架的耐压性能越好,使用的可靠性越大。

(4) 动态顺应性,是指血管支架对管道内部应力的形变响应性^[53],是衡量血管腔在压力作用下可扩张程度的重要指标。在正常生物体内,心脏收缩时血管充盈,管壁膨胀,这种膨胀起到重要的稳定血流的作用。若支架与宿主血管顺应性不匹配,将引起血管移植部位血液动力学的变化,在吻合处易引起血栓形成和血管内膜增生,其中血栓形成会导致血管在短期内发生阻塞,而内膜增生是影响血管移植物远期通畅率的主要因素。另外,由于支架与宿主血管的径向膨胀率不同,在吻合处将会有过多的应力产生,导致吻合处产生缝合线的疲劳,宿主动脉产生剪切力并产生纤维组织。因此,移植血管和宿主动脉的顺应性差异是移植早、晚期失败的重要原因之一。

5.3.2 实验及讨论

本论文采用日本岛津公司的AG-1电子强力仪分别对支架的拉伸强度和缝合强度进行了测试。

5.3.2.1 拉伸强度

配置浆料浓度(w/v)为6/100,分别在20℃和30℃的喷头温度条件下制作PLGA支架。参照SOLETTI L等^[54]所描述的方法,在室温下进行干样测试。沿轴向截取长30mm,宽5mm的测试样品,剩余部分进行支架壁厚的测试,以备实验数据处理。将测试样品竖直地固定到夹具之间,保留20mm的夹持长度,装载1KN的拉力传感器,以20 mm/min的速度匀速拉伸直至断裂。计算机会自动记录下实验过程中样品所受拉力及对应的形变。根据公式:应力=拉力/受力面积、应变=形变/原长,计算

出极限拉伸应力 (UTS) 及其对应的最大应变 (STF)。每组3个样品, 计算值用“均值 $\pm$ 标准偏差” (Mean $\pm$ SD) 表示, 用SPSS17.0进行统计学分析。

如图5-2所示, 喷头温度从20℃变化到30℃, 制得支架的极限拉伸应力由 (1639.20 $\pm$ 36.52) KPa增加到 (2197.74 $\pm$ 35.86) KPa, 经统计学分析表明, 两者存在显著差异 ($P<0.05$); 而支架的最大应变则是略有下降, 但两者不存在显著差异 ($P>0.05$)。温度参数的变化对支架的孔隙率并无显著影响, 但是会明显改变壁面的粘接强度。在适当的范围内, 喷头温度越高, 粘接强度越好, 从而支架的拉伸强度也得到显著加强。

李莉等所测新鲜血管拉伸强度为 (1.08 $\pm$ 0.20) MPa^[55]; 李双燕等^[56]利用静电纺丝工艺所制作的PLGA血管支架的拉伸强度为0.36 MPa, 经过乙醇处理后能达到2.03 MPa; 涂秋芬等^[57]制作的以脱细胞犬动脉为基质的血管支架, 经测试其拉伸强度为 (0.65 $\pm$ 0.15) MPa, 对照组新鲜犬动脉则为 (0.85 $\pm$ 0.2) MPa。本研究制作的血管支架, 拉伸强度与上述研究相近, 完全可以达到相应的拉伸强度要求。

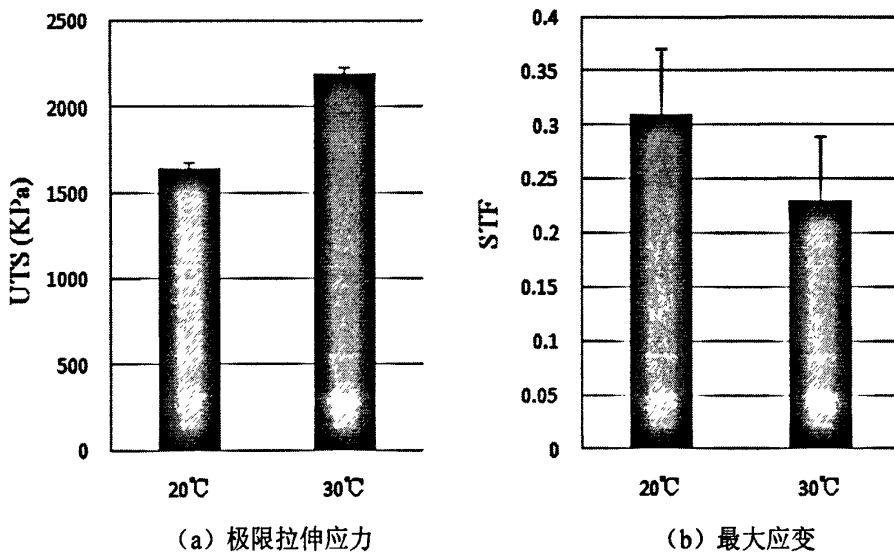


图5-2 拉伸强度

5.3.2.2 缝合强度

将三种不同浓度 (4/100, 6/100和9/100) 的PLGA血管支架沿长轴方向剪开, 截取约20mm长, 10mm宽的矩形块为样品, 用 (5-0) 号锦纶单丝手术线 (上海浦东金环医疗用品有限公司) 将其短边与硬质模板缝在一起 (图所示)。按照通常的手术缝合标准, 手术线针孔间距1mm~2mm, 针孔距端部2mm, 10mm宽的样品上共有5个针孔。将样品和硬质模板分别夹持到电子强力仪的夹具中, 保留20mm的夹持长度, 装载1KN的拉力传感器, 以20 mm/min的速度匀速拉伸。当有手术线从支架抽出, 或者管壁被拉坏时, 实验停止。记录下实验停止时的最大拉力, 除以针孔数后得每针所能承受的最大拉力, 即支架的缝合强度。每组3个样品, 计算值

用“均值 $\pm$ 标准偏差”(Mean $\pm$ SD)表示,用SPSS17.0进行统计学分析。

从图5-3可以看出,浆料浓度从4/100上升到9/100,而支架的缝合强度也是逐步从(0.476 $\pm$ 0.05)N逐步增加到(2.732 $\pm$ 0.1)N,且三组数据间存在显著差异($P<0.05$)。如前文所述,浆料浓度与支架孔隙率是成反比的,而孔隙率变大,则会削弱支架的机械强度。因此随着浆料浓度的增加,支架的缝合强度也逐渐加强。本研究中制作的血管支架缝合强度为0.476N $\sim$ 2.732N,符合血管移植时支架所需承受的缝合强度范围0.8N $\sim$ 1.5N^[58]。

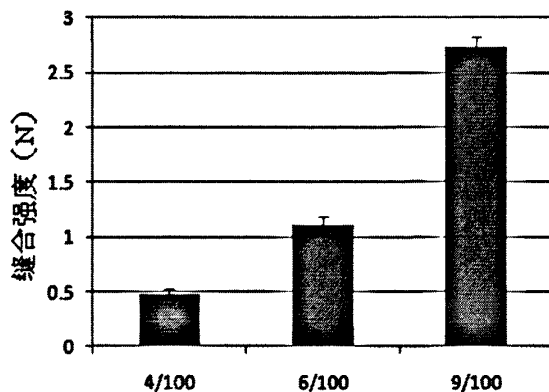


图5-3 缝合强度

5.4 支架生物相容性研究

体外细胞培养法是较常用的研究生物相容性的方法,具有简单、快速、敏感性高及可缩短生物材料研究周期等优点^[59]。脂肪干细胞同其他干细胞相比,具有自体取材、来源丰富、抽取方便、损伤小、增殖快速等优点。同时脂肪干细胞和血管基质细胞同源,和内皮细胞有许多相同的生物表征,比如细胞表面因子CD34,并且在一定的因子诱导下脂肪干细胞也可以转化成为成熟的内皮细胞。因此,本论文采用脂肪干细胞与血管支架共培养,研究LDM工艺所制得支架的生物相容性。

5.4.1 大鼠脂肪干细胞的分离和培养

(1) 大鼠(100-150g)腹腔注射戊巴比妥钠麻醉后,用70%乙醇浸泡10min,无菌取腹部皮下脂肪组织,迅速放入无菌的烧杯内,转移入超净台;

(2) 在超净台内,用D-Hank's溶液清洗三遍,转入新的烧杯中,将脂肪组织剪成直径2 $\times$ 2 mm的小块,加入D-Hank's溶液,转移到离心管中,1500rpm离心10分钟;

(3) 轻轻吸取上层漂浮的脂肪组织到烧杯中,然后加入2mL的0.1%胶原酶(II型)溶液,37 $^{\circ}$ C消化45min,用250- μ m的尼龙滤网过滤消化液,过滤后的液体转移到离心管中,1000rpm离心10分钟;

(4) 吸去上层成熟的脂肪细胞,沉积的细胞用D-Hank's溶液再次配成细胞悬液,用25- μ m的尼龙滤网再次过滤,滤液1000rpm离心10分钟;

(5) 去除上清, 加入含15% FCS 的DMEM培养基, 吹打散开所有细胞团, 记数, 调整细胞浓度到 $1.5\sim 3\times 10^5$ cells/ml, 接种于25cm²培养瓶中, 培养于37℃二氧化碳恒温培养箱中;

(6) 培养箱内孵育12小时后, 轻轻晃动培养瓶, 使未粘附的物质(组织和细胞碎片)悬浮起来, 倾倒掉培养液, PBS轻轻洗涤一次, 加入新的含15% FCS 的DMEM培养基继续培养;

(7) 一般三天左右, 细胞达到单层汇合, 细胞汇后, 进行常规传代培养, 每三天传代一次。

5.4.2 支架预处理及细胞和支架共培养

将直圆管支架沿径向切割成约3mm厚的圆环片, 进行酒精消毒后, 平铺于经0.5%海藻酸钠溶液浸润过的培养皿底部, 加入2% CaCl₂溶液固定5分钟, 0.2%明胶溶液浸泡2天。将细胞密度调整至 $1.5\sim 3\times 10^5$ cells/ml, 接种于圆环片上, 置于37℃二氧化碳恒温培养箱中共培养。

5.4.3 CD34 免疫荧光检测

在共培养的第5天做CD34抗体免疫荧光染色:

- (1) 取组装体用4%戊二醛4℃固定20min, PBS冲洗冷三遍, 吸干;
- (2) 滴两滴50 μg/mL PI染色10 min;
- (3) PBS冲洗冷三遍;
- (4) 经山羊血清封闭后, 滴加一抗溶液: rabbit anti-rat CD34;
- (5) 7℃湿盒反应30min, 然后用PBS洗三遍, 洗去未结合的抗体; PBS冲洗冷三遍;
- (6) 滴加荧光素标记的 II 抗FITC-conjugated anti rabbit IgG (1:20 in PBS) 37℃孵育30 min (避光);
- (7) 37℃湿盒反应30min, 然后用PBS洗去未结合的荧光标记 II 抗;
- (8) 荧光显微镜观测, FITC 激发波长为488nm。

5.4.4 结果及讨论

结构体培养5天后, 在荧光显微镜下观察血管支架内表面, CD34可将脂肪干细胞染上绿色荧光, 如图5-4所示, 荧光显微镜下支架表面的细胞的胞质和细胞膜出现强绿色荧光, 血管支架内壁铺满细胞。CD34是分子量约115Kd的跨膜糖蛋白, 既是脂肪干细胞的表面标志, 也是血管内皮细胞的表面标志, 研究表明CD34主要在内皮细胞的增生期间表达。本研究证明, 支架表面脂肪干细胞生长良好, 细胞在通道表面迁移、增殖、铺展, 紧密连接, 形成细胞层, 构成类似于血管内皮层的结构。

本研究证明利用LDM工艺制作的支架, 在经过明胶浸泡改性后, 具有良好的

细胞相容性，细胞可在其表面生长、繁殖形成类似于血管内皮层的结构。

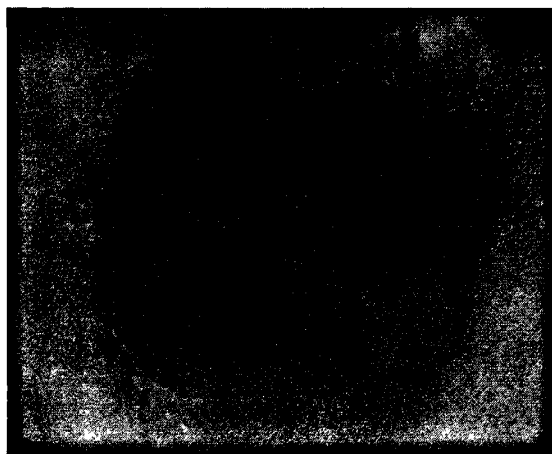


图5-4 CD34免疫荧光检测

5.5 本章小结

本章对直圆管支架的孔隙率、水渗透性和力学性能等支架的物理特性进行表征方法介绍及实验评测，并通过在直圆管支架上培养大鼠脂肪干细胞来检验支架的生物相容性。

(1) 利用LDM工艺成形的支架，其孔隙率、水渗透性、力学性能和生物相容性均能达到对于组织工程血管支架的要求。

(2) 壁面微孔的不同状态，会导致不同的支架孔隙率及水渗透性。在有效的成形参数范围内，孔隙率基本不受喷头温度的影响，但是会随着浆料浓度的增加而减小；水渗透性则是随着喷头温度的升高而大幅度增加，或者随着浆料浓度的增加而大幅度减小。

(3) 支架的力学性能受孔隙率及壁面粘接强度的控制。在有效的成形参数范围内，拉伸强度随着喷头温度的升高而加强，缝合强度随着浆料浓度的增加而加强。

第6章 结论与展望

本论文的工作包括利用低温沉积制造工艺制作组织工程血管支架, 以及所制作支架的各项性能的研究。

论文分析比较了组织工程血管支架制作的国内外现状, 将快速成形技术引入血管支架的制作中。研究了血流动力学中与分支血管形态相关的科学问题, 辅以分支血管内的流场仿真, 为分支结构支架的 CAD 建模提供优化设计指导。采用 SolidWorks 和 Aurora 分别构建直圆管支架、单分支血管支架和树状分支血管网支架的数字模型, 并通过 LDM 工艺实现支架的制作。讨论了各种典型成形参数对壁厚、微孔结构和壁面粘接等表现特征的影响, 并在此基础上研究支架的孔隙率、水渗透性和力学性能的表征方法及调控原理。对支架的物理特性和生物相容性进行了评测。主要研究结论是:

(1) 从材料、设计和加工方法三个方面系统地分析了血管支架的研究现状, 介绍了快速成形工艺在医学领域中的应用情况, 提出通过 LDM 工艺制作传统的直圆管支架和结构较复杂的单分支血管支架及树状血管网支架。

(2) 以血管的解剖学和生理学为基础, 结合血流动力学理论, 分析动脉分支血管血液流动的阻力分配, 为血管分支形态提供了生物力学解释; 以最小能量消耗为目标对血管分支形态实施优化设计; 辅以计算流体力学进行分支血管内的流场仿真分析, 以指导 CAD 数字模型的构建。

(3) 利用 LDM 工艺可以很好地成形传统的直圆管支架和结构较复杂的单分支血管支架, 树状血管网支架。

(4) 成形过程中通过成形参数的控制, 可以实现支架表现特征的调控。支架壁厚会随着螺杆转速与扫描速度之比的增加而增加; 微孔尺寸、壁面粘接强度及支架壁厚与喷头温度成正相关; 而浆料浓度的增加则会减小微孔尺寸。

(5) 支架的孔隙率、水渗透性和力学性能因与支架的各表现特征直接相关, 则也可以通过控制成形参数来调控上述各性能。

(6) 支架的物理特性和生物相容性能够满足血管组织工程对于支架的要求。

同时, 本论文还存在以下不足之处, 需要进一步的探索和研究:

(1) 就血管支架的三维模型设计方面, 只进行了 CAD 建模, 而随着研究的深入还可以往三维重构方向发展, 将取得更良好的支架仿生效果。

(2) 本研究主要采用了 PLLA 和 PLGA 材料, 在以后的研究中可以对更多的支架材料设计展开研究。随着材料科学的发展, 新生物材料的出现, 需要不断发

现新的更加适合血管组织工程支架的材料。

(3) 由于实验室设备和仪器限制, 对于支架力学性能方面的评测只做了拉伸强度和缝合强度两项, 更全面的评测还可以进行支架的爆破强度测试及动态顺应性测试。

(4) 对支架生物相容性的研究只做了初步的探讨, 可以进一步对支架的生物相容性、材料表面改性、诱导因子附合等方向做深入的研究。

致 谢

时间飞逝，转眼读研已近三年。在这段时间里，许多老师和同学在学习上和生活中都给予我很大的帮助。在行将毕业离别之际，更是留恋秀丽的杭电。

衷心感谢导师徐铭恩教授对我的悉心指导，使我增长了不少知识。他严谨的治学作风和崇高的品质亦给我留下了深刻的印象，为我今后的人生道路树立了榜样，将使我受益终生。

感谢索海瑞师兄在学习上给予我的帮助。感谢我的同学王秋君、蔡建辉，是他们伴我成长，共同学习，共同进步。

感谢我的父母多年来对我学习和生活上的支持和关心。感谢所有关心和帮助过我的老师、同学和朋友们。

参考文献

- [1] 曹谊林. 组织工程学[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 625.
- [2] 刘庆阳, 谷涌泉, 吴英锋, 等. 血管组织工程的进展[J]. 中国美容医学, 2007, 16(9): 1296-1301.
- [3] 陈兵, 张柏根. 血管组织工程研究进展和方向[J]. 中华外科杂志, 2004, 42(5): 302-305.
- [4] 林本瑞. 组织工程血管研究进展[J]. 中国美容医学, 2006, 15(9): 1098-1101.
- [5] 张玲, 敖强, 贺庆, 等. 聚羟基丁酸己酸酯/聚碳酸亚丙酯共混材料作为血管组织工程支架的性能特征[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(35): 6950-6953.
- [6] 刘利. 骨软骨组织工程梯度支架的制造技术及应用研究[D]. 北京: 清华大学, 2008: 80.
- [7] 王芳. 生物可降解人工血管支架的制备及性能研究[D]. 上海: 东华大学, 2006: 2-3.
- [8] 刘国锋, 杨大平, 郭铁芳, 等. 血管组织工程支架材料的研究进展[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2007, 41(3): 291-293.
- [9] Weinberg CB, Bell E. A blood vessel model constructed from collagen and cultured vascular cells[J]. Science, 1986: 231-397.
- [10] 刘咸罗, 孙大宽, 钱小星等. 血管脱细胞外基质制备的实验研究[J]. 中国现代普通外科进展, 2002, 5(1): 14.
- [11] Wilson GJ, Yeger H, Klement P, et al. A cellular matrix allograft small caliber vascular prostheses[J]. ASAIO Trans, 1990, 36: 340.
- [12] Shinoka T, Shum Tim D, Ma PX, et al. Creation of viable pulmonary artery autografts through tissue engineering[J]. Thorac Cardiovasc Surg, 1998, 115(3): 536.
- [13] Nillason LE, Gao J, Abbott WM, et al. Functional arteries grown in vitro [J]. Science, 1999, 284: 489-493.
- [14] 熊猛, 王颺, 艾玉峰, 等. 胶原包埋聚羟基乙酸构筑血管模型[J]. 第四军医大学学报, 1999, 20(11): 1006-1008.
- [15] Zhu Y, Gao C, Liu X, et al. Immobilization of biomacromolecules onto aminolyzed poly(L-lactic acid) toward acceleration of endothelium regeneration [J]. Tissue Eng, 2004, 10(1-2): 53-61.
- [16] Shum Tim D, Stock U, Hrkach J, et al. Tissue engineering of autologous aorta using a new biodegradable polymer[J]. Ann Thorac Surg, 1999, 68(6): 298.
- [17] 陶梅, 张磊, 向虎, 等. 具有三层管壁结构组织工程血管支架的生物力学性能[J]. 中国生物医学工程学报, 2006, 25(6): 728-732.
- [18] 王曙东. 静电纺 PLA/丝素-明胶复合管状支架的构建及其性能[D]. 江苏: 苏州大学, 2009: 6.
- [19] 周飞, 徐卫林, 欧阳晨曦, 等. 小口径微孔聚氨酯人造血管生物力学性能研究[J]. 医用生物力学, 2008, 23(4): 270-274.

- [20] Nieponice A, Soletti L, Guan JJ, et al. Development of a tissue-engineering vascular graft combining a biodegradable scaffold, muscle-derived stem cells and a rotational vacuum seeding technique[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(7): 825-833.
- [21] Vaz C M, Tuijl S V, Bouten C V C, et al. Design of scaffolds for blood vessel tissue engineering using a multi-layering electrospinning technique[J]. *Acta Biomaterialia*, 2005, 1(5): 575-582.
- [22] Mo XM, Xu CY, Kotski M, et al. Electrospun P(LLA, CL) nanofiber: a biomimetic extracellular matrix for smooth muscle cell and endothelial cell proliferation[J]. *Biomaterials*, 2004, 25(10): 1883-1890.
- [23] 索海瑞, 岳秀艳, 史廷春, 等. 组织工程支架的低温沉积制造工艺参数研究[J]. *机电工程*, 2009, 26(3): 57-60.
- [24] Hutmacher DW, Sittinger M, Risbud MV. Scaffold-based tissue engineering: rationale for computer-aided design and solid free-form fabrication systems[J]. *Trends in Biotechnology*, 2004, 22(7): 364.
- [25] Kinoshita S, Konishi G, Takeuchi S, et al. Stereovectorcardiogram made by stereolithography [J]. *Cardiology*, 1990, 77 (4): 269.
- [26] Wohlers T. Growth and advances in rapid prototyping. In: International conference: new developments and trends in RP around the world – a special Euro Mold 2001 event. Frankfurt, Germany: 2001.1-5.
- [27] Sodian R, Loebe M, Hein A, et al. Application of stereolithography for scaffold fabrication for tissue engineered heart valves[J]. *ASAIO J*, 2002, 48(1): 12.
- [28] 何创龙, 夏烈文, 罗彦凤, 等. 快速成形技术在骨组织工程领域的应用进展[J]. *生物医学工程学杂志*, 2004, 21(5): 871-875.
- [29] 黄贤旭. 骨组织工程支架结构及快速成型制造工艺研究[D]. 上海: 上海大学, 2007: 6-7.
- [30] 熊卓, 颜永年, 张人佺, 等. 骨组织工程聚左旋乳酸多孔框架快速成形研究[J]. *清华大学学报 (自然科学版)*, 2002, 42(2): 157-160.
- [31] 刘阳, 谭最. 组织工程血管支架研究进展[J]. *武汉大学学报 (医学版)*, 2006, 27(1): 124-129.
- [32] 李生杰. 多种细胞的三维受控组装技术研究[M]. 北京: 清华大学, 2009: 26-27.
- [33] 陶祖莱. 生物力学导论[M]. 天津: 天津科技翻译出版公司, 2000: 356-358.
- [34] 陶祖莱. 生物流体力学[M]. 北京: 科学出版社, 1984: 529-536.
- [35] 王桂清. 血液动力学在血管重构中的作用[J]. *基础医学与临床*, 2004, 24(3): 264-268.
- [36] 郑长松, 谢昱北, 郭军, 等. SOLIDWORKS 2006 中文版机械设计高级应用实例[M]. 北京: 机械工业出版社, 2006: 253-255.
- [37] 班兴敏, 张延芳. 动脉血栓形成过程的血流动力学有限元分析[J]. *医用生物力学*, 2001, 16(1): 44-47.
- [38] 刘利, 张人佺, 熊卓, 等. 骨组织工程支架的快速制造及脊柱融合实验研究[J]. *工程塑料应用*, 2006, 34: 126-129.
- [39] 熊卓. 骨组织工程支架的低温沉积制造及应用基础研究[D]. 北京: 清华大学, 2002: 55-57.

- [40] 章熙民, 任泽霁, 梅飞鸣. 传热学[M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 93: 3.
- [41] 张辑洲. 传热学[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 1987: 290.
- [42] ISO7198. Cardiovascular Implants—Tubular Vascular Prostheses[S].
- [43] 聚氯乙烯加工手册编写组. 聚氯乙烯加工手册[M]. 北京: 轻工业出版社, 1990: 180-185.
- [44] ATALA A, LANZA RP. 杨志明等译. 组织工程方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 642.
- [45] 张开. 高分子界面科学[M]. 北京: 中国石化出版社, 1997: 147-156.
- [46] 贾立霞. 人造血管水渗透仪的设计及其渗透性表征的实验研究[D]. 上海: 东华大学, 2004.
- [47] 吕运转. 编织型神经再生导管孔隙率的表征及对神经导管性能的影响[D]. 上海: 东华大学, 2007.
- [48] 索海瑞. 骨组织工程支架的低温沉积制造实验研究[D]. 杭州: 杭州电子科技大学, 2008.
- [49] Sangwon Chung, Niles P. Ingle, Gerardo A. Montero, et al. Bioresorbable elastomeric vascular tissue engineering scaffolds via melt spinning and electrospinning[J]. Acta Biomaterialia, 2010, 6(6): 1958-1967.
- [50] Xixue Hu, Hong Shen, Fei Yang, et al. Preparation and cell affinity of microtubular orientation-structured PLGA (70/30) blood vessel scaffold [J]. Biomaterials, 2008, 29(21): 3128-3136.
- [51] 赵书尧, 李毓陵, 陈旭炜. 人造血管用织物的研制及其渗透性能的研究[J]. 产业用纺织品, 2002, 20(147): 20-34.
- [52] 王曙东, 李双燕, 张幼珠. 小口径组织工程血管支架的研究与展望[J]. 苏州大学学报(工科版), 2008, 28(2): 23-26.
- [53] Quaglini V, Villa T, Miglia vacca F, et al. An vitro methodology for evaluating the mechanical properties of aortic vascular prosthesis [J]. Artificial Organs, 2002, 26(6): 555-564.
- [54] SOLETTI L, HONG Y, GUAN JJ, et al. A bilayered elastomeric scaffold for tissue engineering of small diameter vascular grafts[J]. Acta Biomaterialia, 2010, 6(1): 110-122.
- [55] 孙秀娟, 范代娣, 朱晨辉, 等. 类人类胶原蛋白-透明质酸血管支架的性能及生物相容性[J]. 生物工程学报, 2009, 25(4): 591-598.
- [56] 李双燕, 王曙东, 张幼珠, 等. 静电纺 PLGA 管状支架的构建及其生物力学性能[J]. 合成纤维, 2009, 11: 22-25.
- [57] 涂秋芬, 张怡, 吴江, 等. 以脱细胞犬动脉为基质的血管支架体外再细胞化[J]. 航天医学与医学工程, 2007, 20(5): 358-363.
- [58] Billiar K, Murray J, et al. Effects of carbodiimide crosslinking conditions on the physical properties of laminated intestinal submucosa [J]. J Biomed Mater Res, 2001, 56: 101-108.
- [59] 刘庆阳. 组织工程动脉血管组织构建的初步实验研究[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2005.

附 录

作者在读期间发表的学术论文

1. Mingen Xu, Yanlei Li, Hairui Suo, et al. Fabricating a pearl/PLGA composite scaffold by the low-temperature deposition manufacturing technique for bone tissue engineering. Biofabrication, 2010, 2, 025002, Epub ahead of print.
2. 李艳蕾, 徐铭恩, 王秋君, 等. 血管组织工程支架的计算机辅助低温沉积制造研究. 生物医学工程学杂志 (已录用).