

The Effect of Plastic Deformation of Stainless Steel Stent on the Behavior of Vascular Wall Cells

Huiyi Hu, Jianying Tan, Xiaohui Mou, Yajun Weng, Junying Chen*

School of Materials Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu Sichuan
Email: *chenjy@263.net

Received: May 27th, 2020; accepted: Jun. 10th, 2020; published: Jun. 17th, 2020

Abstract

Metal stents are widely used in interventional therapy of cardiovascular diseases. The amount of plastic deformation is different in each position when the stent is expanded in the vessel. When the stent is in direct contact with the cells of the vessel wall and interacts with them, the amount of plastic deformation of the metal will affect the behavior of the cells of the vessel wall. Based on this, this paper takes biomedical stainless steel as the object, and sets different amounts of deformation (20%, 60%, 100%) for the plastic deformation of stent after expansion. The universal testing machine was used to stretch the biomedical stainless steel. The surface morphology of the samples was characterized by optical microscope (OM), scanning electron microscope (SEM) and step measuring instrument. The physical and chemical properties of the surface of the sample were measured by water contact angle (WCA) the calculation of surface energy component. The growth behavior of the cells of the vessel wall was evaluated by fluorescence staining and cell counting kit-8 (CCK-8). The results show that the endothelial cells have the best activity when the deformation is 60%, but the smooth muscle cells have no significant difference. When the deformation is more than 60%, the growth direction of endothelial cells and smooth muscle cells tend to be parallel to the stretching direction. The results of this study suggest that it is of great significance to design the appropriate configuration of the stent, as it can adjust the plastic deformation of different positions of the stent during the service process, and improve the cell behavior on the vascular wall.

Keywords

Vascular Stent, Plastic Deformation, Medical Stainless Steel, Cells of the Vessel Wall

不锈钢支架的塑性变形量对血管壁细胞行为的影响

胡慧怡, 谭建英, 牟小辉, 翁亚军, 陈俊英*

*通讯作者。

西南交通大学材料科学与工程学院, 四川 成都
Email: chenjy@263.net

收稿日期: 2020年5月27日; 录用日期: 2020年6月10日; 发布日期: 2020年6月17日

摘要

心血管疾病介入治疗中大量使用金属支架。支架撑开后, 各位置塑性变形量不同, 与血管壁/细胞直接接触并发生相互作用时, 金属塑性变形量将对表面血管壁细胞行为产生影响。基于此, 本文以生物医用不锈钢为对象, 针对血管支架扩张后的塑性变形, 设定不同变形量 ε (20%、60%、100%), 并借助万能试验机制备相应样品; 通过光学显微镜(OM)、扫描电子显微镜(SEM)、台阶仪等对样品表面进行材料形貌表征; 通过水接触角测试、表面能分量计算等对样品表面进行理化性质测定; 通过荧光染色法和CCK-8 (Cell Counting Kit-8)细胞活性检测对血管壁细胞的生长行为进行评价。结果显示, 因塑性变形量的差异, 内皮细胞在 $\varepsilon = 60\%$ 时细胞活性最好, 平滑肌细胞的细胞活性没有明显差异; 当 $\varepsilon > 60\%$ 时, 内皮细胞与平滑肌细胞的生长方向均趋向于与拉伸方向平行。本文研究结果提示, 对血管支架进行恰当构型设计, 调整服役过程中支架不同位置的塑性变形量, 改善血管壁细胞行为, 具有重要意义。

关键词

血管支架, 塑性变形, 医用不锈钢, 血管壁细胞

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)死亡率居各病因之首, 占居民疾病死亡构成 40%以上。目前, 中国 CVD 患病率及死亡率处于持续上升阶段, 据推算, 中国 CVD 现患人数高达 2.9 亿[1]。动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)是导致心血管疾病的一大主要原因, 动脉病变从内膜开始, 首先脂质和复合糖类积聚、出血, 形成血栓, 此时纤维组织增生及钙质沉着, 伴有动脉中层的逐渐蜕变和钙化, 随后在动脉内膜形成积聚的外观呈黄色粥样脂质, 导致动脉壁增厚变硬、血管腔狭窄。对此, 目前的治疗手段包括药物治疗、经皮冠状动脉介入治疗以及冠状动脉搭桥术等三种方式, 其中支架植入术, 作为经皮冠状动脉介入治疗手段之一, 因其创伤小、效果确切、风险小的优势, 且其有效性和安全性在临床使用中得到广泛认可, 已逐渐成为一种主流的治疗方式[2] [3]。

支架植入过程中, 球囊加压使支架沿径向撑开, 达到对狭窄血管的支撑作用, 撤去球囊, 支架留置于狭窄处, 并保持撑开状态。扩张后的支架因受到外力作用而发生塑性形变, 而在不同部位所受应力不同, 造成塑性变形量也不尽相同。研究表明, 支架在扩张过程中, 应力集中区域为支架花冠拐弯处, 如图 1 所示, 这一区域也是支架的主要变形区域, 而支架所受应力最小值发生在支架的支撑筋处[4]。就整个支架而言, 在撑开过程中, 从花冠到支撑筋再到花冠处, 所受应力呈现大 - 小 - 大的对应关系, 因而其变形量也具有大 - 小 - 大的特点。

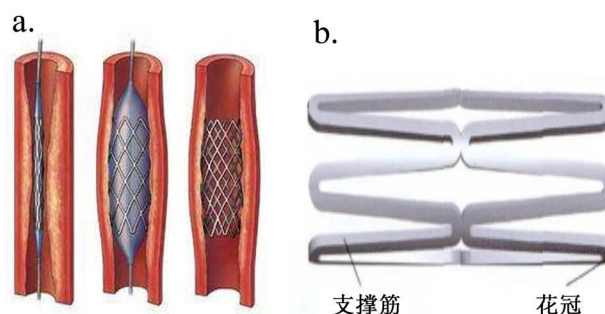


Figure 1. Stent placement (a); One of the structures of vascular stent (b)
图 1. 支架置入术(a); 血管支架的结构之一(b)

支架因受不同力的作用,其各位置的塑性变形量也不同。力对细胞的影响已有较多研究。研究表明,能对细胞产生影响的力学因素有许多,比如细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)力学性质、材料基底的力学性质、材料表面拓扑结构、材料表面粘附的蛋白以及外在的力学刺激如流体剪切力、基底拉伸应变、重力、压力等,细胞所处的力学微环境对其生物学响应具有重要的作用。Ivanovska 等发现 ECM 刚度影响肌动球蛋白的收缩并最终影响细胞的分化[5]。Peyton 等发现多种组织细胞趋于向刚度较大的区域迁移并聚集[6] [7] [8] [9]。Wang 等人利用微印章技术改变表面拓扑结构来控制细胞排列取向[10]。Kapur 等人发现流体剪切力可促使成骨细胞的分化和矿化[11]。Kurpinski 等人发现基底拉伸力可促进细胞迁移并改变细胞排列取向[12] [13] [14]。Zhang 等人发现重力大小和方向的改变可引发细胞骨架的重排[15] [16]。力学微环境对细胞影响的研究已有报道,但对于基底材料本身的塑性变形对细胞生物学行为的影响却鲜有提及。血管支架植入后,了解支架撑开过程的不同塑性变形量,了解变形量对血管壁细胞行为的影响,对支架的构型设计、对血管壁细胞相容性改善的研究具有重大意义。

本文研究不锈钢支架的不同塑性变形量对血管壁细胞粘附行为的影响,通过光学显微镜、扫描电子显微镜、台阶仪对样品表面进行材料形貌表征;通过水接触角测试、表面能分量计算等对样品表面进行理化性质测定;通过荧光染色法和 CCK-8 细胞活性检测对内皮细胞和平滑肌细胞的生长行为进行评价;以揭示不锈钢塑性变形量对细胞相容性的影响,为血管支架构型设计提供参考,优化调整不锈钢血管支架的塑性变形与服役特征,影响血管壁细胞的行为,改善支架的生物相容性。

2. 材料与方法

2.1. 材料与试剂

316L 不锈钢,砂纸,丙酮,酒精,纯水(RO 水),37.5%的盐酸溶液(HCl),65%的硝酸溶液(HNO₃),二碘甲烷(CH₂I₂),生理盐水(NaCl),2.5%戊二醛,血清(FBS),培养基(DMEM-F12),0.25%胰酶,罗丹明 123, CCK-8。

2.2. 仪器与设备

箱式退火炉,抛光机,万能试验机,光学显微镜,扫描电子显微镜(JSM 7800F),探针式台阶仪(AMBIOS XP-2),接触角仪,倒置荧光显微镜(OLYMPUS-IX5,日本),离心机,超净工作台。

2.3. 实验方法

2.3.1. 样品制备

将哑铃型 316L 不锈钢放入箱式退火炉进行去应力退火,升温至 550℃,保温 2 小时,随炉冷却至室温,以消除内应力;用抛光机将样品打磨、抛光;使用万能试验机,采用位移控制,以 1.8 mm/min 的横

梁速度分别拉伸样品至变形量 ε 为 20%、60%、100% (1), 取未拉伸样品作为对照; 用线切割机切下样品均匀变形区域作为后续实验样品, 将变形量为 0%、20%、60%、100% 的样品依次命名为 $L0$ 、 $L0.2$ 、 $L0.6$ 、 $L1.0$ 。

$$\varepsilon = \frac{L - L0}{L0} \quad (1)$$

式中, $L0$ 为试样的原始标距长度; L 为试样变形后的长度。

2.3.2. 材料学表征

使用扫描电子显微镜及台阶仪对样品表面进行观察, 分析其表面形貌的变化。为观测拉伸后材料内部组织结构的变化, 分别用粗砂纸、600#、800#、1000#砂纸对样品进行打磨, 再滴加抛光剂进行抛光, 分别用丙酮、酒精、RO 水对样品进行超声波清洗, 每种液体清洗 3 次, 每次 3~5 min。配置腐蚀液为 37.5% 的盐酸溶液、65% 的硝酸溶液和 RO 水按体积比 2:1:1 混合, 将腐蚀液滴加在样品表面, 待样品表面变暗, 用流水冲洗再用酒精洗去多余的腐蚀液并吹干, 置于光学显微镜下观察。

2.3.3. 理化性质测定

分别将 RO 水(极性溶剂)及 CH2I2 (非极性溶剂)滴加于样品表面, 采用接触角仪对液滴的角度进行测量, 为减小实验误差, 每组样品设置 3 个平行样, 每个样品测量 3 个不同位置。结合 RO 水及 CH2I2 的接触角值, 根据 Young 方程(2) (3)计算其表面能。

$$\gamma_{sy} = \gamma_s^d + \gamma_s^p \quad (2)$$

$$\gamma_{1y} (1 + \cos \theta) = 2(\gamma_s^d \gamma_{1y}^d) / 2 + 2(\gamma_s^p \gamma_{1y}^p) / 2 \quad (3)$$

式中, γ_{sy} 为固体表面能, γ_s^d 为固体表面能色散分量, γ_s^p 为固体表面能极性分量; γ_{1y} 为液体表面能, γ_{1y}^d 为液体表面能色散分量, γ_{1y}^p 为液体表面能极性分量。

2.3.4. 血管壁细胞生物学行为表征

将人脐静脉内皮细胞株和人脐动脉平滑肌细胞株分别以 1×10^4 个/ml 和 2×10^4 个/ml 的密度接种于样品表面, 置于 5% CO₂、37℃ 孵箱, 分别培养一天和三天; 用 CCK-8 溶液检测细胞活性, 再用罗丹明染料对细胞进行染色, 在荧光显微镜下观察细胞的形态及密度。

3. 实验结果

3.1. 塑性变形及其变形量的选择

金属材料的拉伸过程可分为四个阶段: 弹性阶段、屈服阶段、强化阶段、局部颈缩阶段, 图 2(a)是 316L 不锈钢的应力应变曲线, 由于弹性阶段不产生塑性变形, 且此图并没有明显屈服阶段, 而颈缩阶段试样断裂, 于是本实验在均匀变形的强化阶段选取低、中、高三种不同的变形量来模拟支架撑开后的塑性变形量。由前文可知, 在支架花冠处所受应力最大, 变形量最大, 而支撑筋处应力最小, 变形量最小, 故由花冠到支撑筋再到花冠是一个应力和变形量减小再增大的过程, 故最小的变形量理应在两花冠的中点位置, 即为图 2(b)中所标注的“低”变形量, 而“高”变形量为花冠位置, “中”变形量一定在“低”和“高”变形量之间。对此, 在图 2(a) 316L 不锈钢应力应变曲线中, 挑选 $\varepsilon = 0.6$ 作为“中”变形量, 向其左右两边各变化 0.4 作为“低”、“高”变形量, 即取 $\varepsilon = 0.2$ 为“低”变形量, 取 $\varepsilon = 1.0$ 为“高”变形量。使用万能试验机对样品进行定位移拉伸, 拉伸后样品如图 2(c)所示, 取均匀变形阶段进行线切割即为本实验样品。

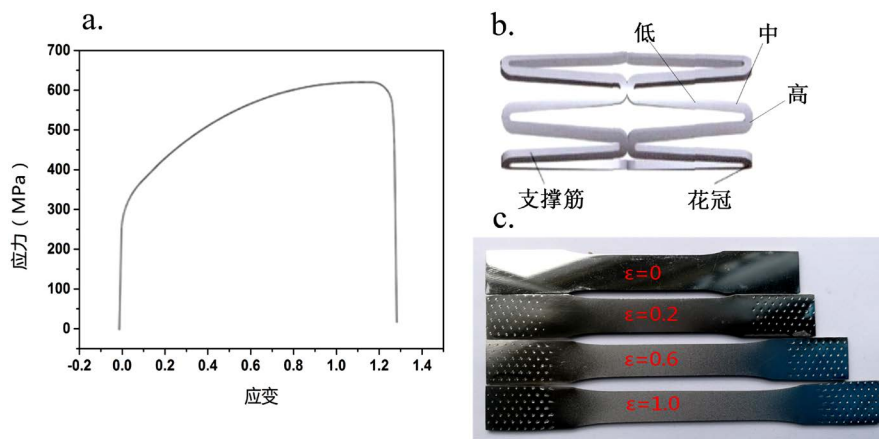


Figure 2. 316L stainless steel stress-strain curve (a); Schematic diagram of stent deformation (b); Picture of samples (c)
图 2. 316L 不锈钢应力 - 应变曲线 (a); 血管支架变形量示意图 (b); 样品图片 (c)

3.2. 塑性变形后不锈钢的材料学表征及其结果

3.2.1. 金相组织结果

图 3 为不同变形量不锈钢的金相组织在光学显微镜下观察的结果，由图可以看出，拉伸之前，晶粒为等轴晶粒，形状为规则多边形，近似于圆形，平均晶粒大小约为 20 μm ，呈现无规则排列。当应变为 20% 时，晶粒开始沿拉伸方向伸长，并产生轻微滑移带。当应变达到 60% 时，晶粒沿着拉伸方向明显伸长，晶粒尺寸达到 30 μm 左右，滑移带继续增多。当应变达到 100% 时，晶粒已变得十分细长，各晶粒的位向与拉伸方向趋于一致，晶粒趋向于整齐排列，并出现更多滑移带。这说明拉伸对材料的内部组织产生了改变。

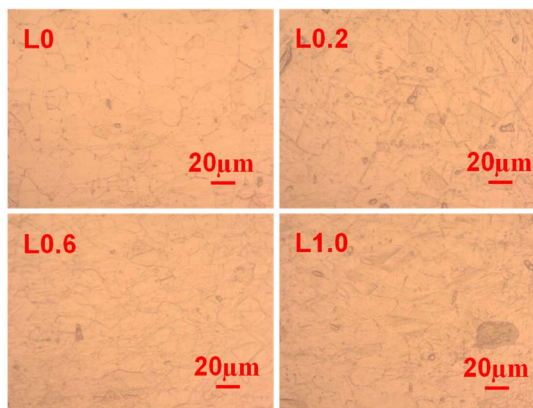


Figure 3. Metallographic change of stainless steel after plastic deformation
图 3. 塑性变形后不锈钢的金相组织变化结果

3.2.2. 扫描电子显微镜结果

图 4 为不同变形量不锈钢表面在扫描电子显微镜下观察的结果，由图可看出，拉伸之前，样品表面较平整，当应变为 20% 时，表面产生凹凸不平区域，并出现轻微滑移带。当应变达到 60% 时，样品表面不平整区域显著增多，滑移带也明显增多。当应变达到 100% 时，样品表面仍有不平整并且在滑移带增多之外伴有织构的出现。这是由于受外界拉力的作用和受内部各晶粒间的相互作用及变形发展的限制，样品内部各晶粒相对于外力轴发生了转动，从而使样品表面变得粗糙，当大多数晶粒聚集到某些取向上来时，晶粒趋向于整齐排列，即形成变形织构。

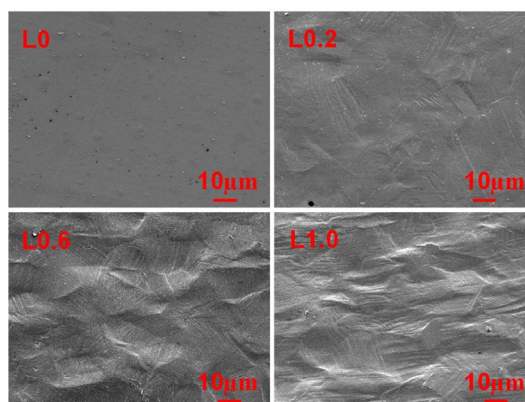


Figure 4. Scanning electron microscope of stainless steel after plastic deformation
图 4. 塑性变形后不锈钢表面扫描电镜结果

3.2.3. 台阶仪结果

图 5 为台阶仪检测不同变形量不锈钢表面的结果，此结果反映了材料表面粗糙度的变化。由图中结果可以看出随着变形量的增大，样品表面粗糙度增大，当变形量达到 60% 之后，粗糙度不再大幅度变化，L1.0 组与 L0.6 组相差无几。这是由于随着拉伸时间的增加，内部晶粒转动加剧，导致表面粗糙度增大，而当变形量很大时(本文为 100%)，各晶粒位向与拉伸方向趋于一致，将形成排列整齐的有序结构，粗糙度有减小并趋于稳定的趋势。

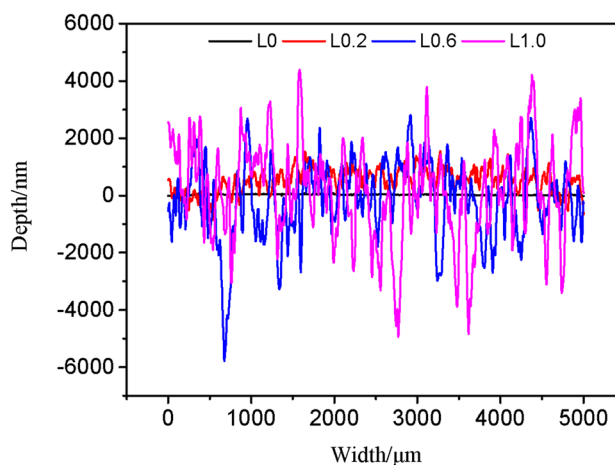


Figure 5. Change of surface roughness of stainless steel after plastic deformation detected by step measuring instrument
图 5. 台阶仪测量塑性变形前后不锈钢表面粗糙度结果

这一结果与前文扫描电子显微镜的结果相对应，说明塑性变形对生物医用不锈钢表面形貌有一定的影响，随着塑性变形的增加，表面粗糙度呈现先增大后减小并趋于稳定的趋势，在塑性变形为 60% 时，材料粗糙度最大。

3.3. 塑性变形后不锈钢的理化性质测定结果

3.3.1. 亲疏水性结果

图 6 为不同变形量不锈钢表面亲疏水性的结果，由图可知，相比于对照组水接触角值为 74° 左右，L0.2 组水接触角减小至 66° 左右，更为亲水，L0.6 组水接触角最小，达到 52° 左右，最为亲水，L1.0 组水接触

角数值为 62° 左右, 大于 L0.6 组而小于对照组和 L0.2 组, 较亲水; 而对照组与实验组之间存在显著性差异, 即塑性变形对生物医用不锈钢表面亲疏水性有显著性的影响, 随着塑性变形的增加, 表面亲水性呈现先增加后减小的趋势, 在适当的塑性变形(本文为 60%)后, 材料能达到最亲水。前文测出样品表面粗糙度最大为 $6\ \mu\text{m}$, 这符合 Wenzel 模型, Wenzel 理论认为粗糙表面使得实际上固-液之间的接触面要大于表观观察到的面积, 增大固体表面粗糙度会使疏水表面更疏水, 亲水表面更亲水, 而所有样品水接触角值皆小于 90° , 故为亲水表面, 所以粗糙度最大的 L0.6 组表面最亲水。

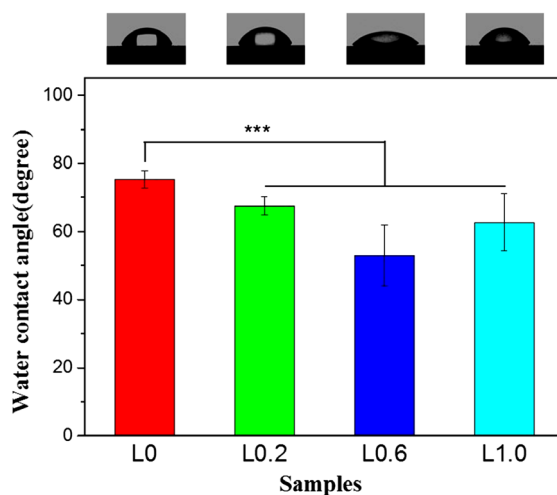


Figure 6. Hydrophilic and hydrophobic changes of stainless steel surface after plastic deformation (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

图 6. 塑性变形后不锈钢表面亲疏水性变化(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

3.3.2. 表面能及其分量计算结果

图 7 为不同变形量不锈钢表面能变化的结果, 由图可知, 对照组表面能最小, 极性分量所占比例最小, 而 L0.6 组表面能最大, 且极性分量所占比例也最大。表面能和表面张力引起较强吸引从而导致水滴在固体表面可以更好的润湿, 因而接触角更小, 这与前文水接触角的结果相一致。这说明塑性变形会对生物医用不锈钢表面能大小产生影响, 随着塑性变形的增加, 表面能呈现先增加后减小的趋势, 在适当的塑性变形(本文为 60%)后, 材料表面能最大。

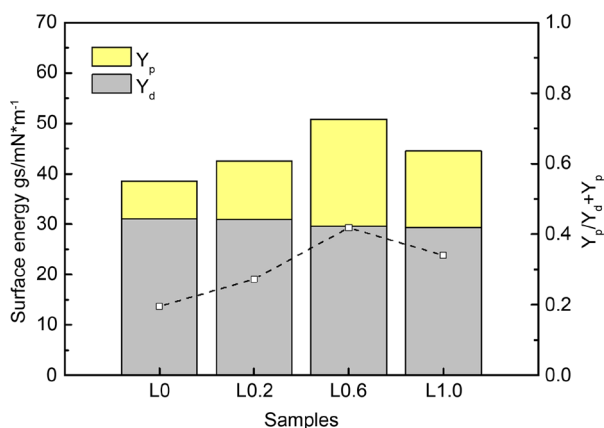


Figure 7. Change of surface energy and proportion of polar component of stainless steel after plastic deformation

图 7. 塑性变形后不锈钢表面能变化及极性分量占比

3.4. 塑性变形后不锈钢表面血管壁细胞的生物学行为

3.4.1. 内皮细胞

内皮细胞(EC)能合成和分泌多种生物活性物质, 保证血管正常的收缩和舒张, 同时, 在抑制血栓形成和维持血管内稳态等方面起着重要作用。当血管内产生动脉粥样硬化病变时, 尤其在植入支架之后, 如果内皮层受到了损伤, 将会影响血管正常的收缩和舒张, 内皮细胞分泌的因子也将受到影响, 这会使动脉粥样硬化更加严重, 因此内皮细胞的生物相容性是评价支架性能的一项重要指标。

图 8 分别为内皮细胞静态培养 1 天后荧光染色结果和静态培养 1 天和 3 天后 CCK-8 的结果。其中图 8(a)为内皮细胞静态培养 1 天后荧光染色结果, 由图可以看出, 对照组 L0 中, 细胞较均匀地铺展在样品表面, 其生长方向具有随机性; L0.2 组的生长与 L0 类似; 而 L0.6 组细胞的长势明显变好, 细胞铺展很开, 且部分细胞的长径方向趋向于与拉伸方向平行, 如图中箭头标注处所示; L1.0 组细胞的生长状态不如 L0.6 组, 但同样有部分细胞的长径方向趋向于与拉伸方向平行, 如图所示。图 8(b)是内皮细胞静态培养 1 天和 3 天后 CCK-8 测量细胞活性的结果, 由图可知, 当细胞生长 1 天之后, L0.6 组的细胞活性较对照组有显著性增大, 明显高于 L0.2 组和 L1.0 组; 培养 3 天之后, L0.2 组的细胞活性较对照组有所增加, L0.6 组的细胞活性仍然最好, 与其他三组均形成显著性差异, L1.0 组与对照组相差不大。这说明, 塑性变形会对内皮细胞的生长方向和细胞活性产生影响, 当变形量达到一定程度(本文为 60%)之后, ECs 的生长方向会有趋向于与拉伸方向平行的趋势; 同时, 随着塑性变形量的增大, ECs 的细胞活性将会呈现先增大后减小的趋势, 在适当变形量(本文为 60%)下, 将会促进 ECs 的生长, 细胞活性达到最大值, 细胞形态最好。

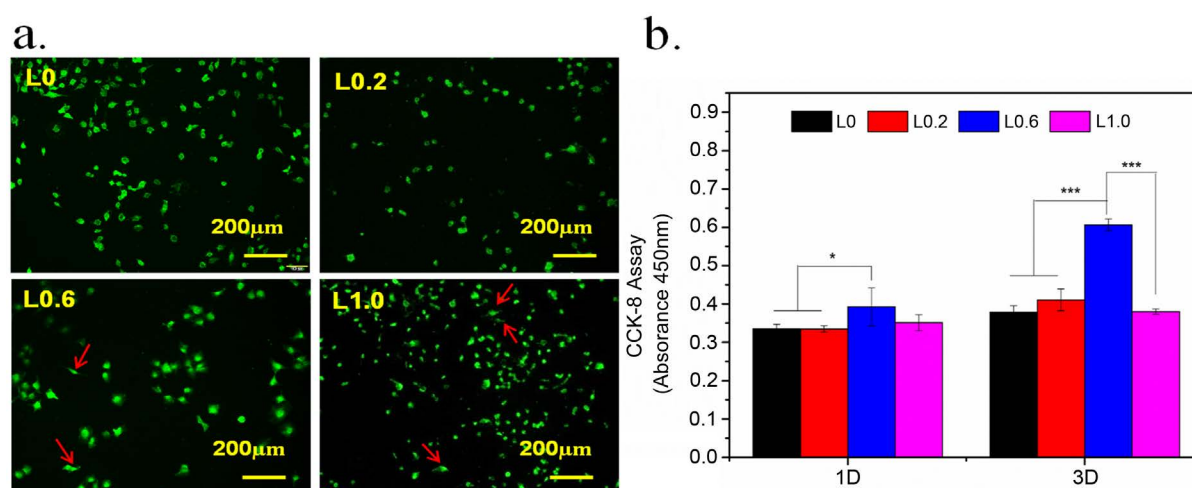


Figure 8. Fluorescent staining results of endothelial cells cultured for 1 day (a); CCK-8 results of endothelial cells cultured for 1 and 3 days (b) ($p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$) (The stretch direction is horizontal)

图 8. 内皮细胞静态培养 1 天后荧光染色结果 (a); 内皮细胞静态培养 1 天、3 天后 CCK-8 结果 (b); ($p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$) (拉伸方向为水平方向)

3.4.2. 平滑肌细胞

平滑肌细胞(SMC)的增殖会促使支架再狭窄及新生动脉粥样硬化, 所以抑制 SMCs 的增殖同样是评价支架性能的一项重要指标。

图 9(a)是平滑肌细胞静态培养 1 天和 3 天后罗丹明染色的结果, 由图可以看出, 培养 1 天之后, 相比于对照组, L0.2、L0.6 组细胞数量皆减少, L1.0 组细胞数量没有明显变化, 培养 3 天后, 与对照组相

比, L0.2 组细胞数量变化不大, L0.6 组细胞数量相对较少, 而 L1.0 组细胞数量相对增多。就细胞形态而言, 相比于对照组, L0.2 组形态变化不明显, L0.6 组有部分细胞有沿拉伸方向生长的趋势, 而 L1.0 组此趋势更加显著, 能明显观察到大部分细胞的长径与拉伸方向平行。图 9(b)是平滑肌细胞静态培养 1 天和 3 天后 CCK-8 测量细胞活性的结果, 可以看出, 在培养 1 天以后, L0.2 和 L0.6 组细胞活性有轻微下降, L1.0 组细胞活性有轻微增大, 但并没有出现显著性差异; 培养 3 天以后, 不同塑变形量之间的细胞活性变化结论与 1 天相似, 但对于同一变形量来说, 培养 3 天时的细胞活性相比于培养 1 天有所降低。这说明医用不锈钢对 SMCs 的生长有一定的抑制作用, 而塑性变形量对 SMCs 在医用不锈钢 316L 表面的细胞活性没有显著的影响, 但会影响 SMCs 在医用不锈钢 316L 表面的生长方向, 当拉伸量达到一定程度(本文为 60%)之后, SMCs 的生长方向将会平行于拉伸方向。

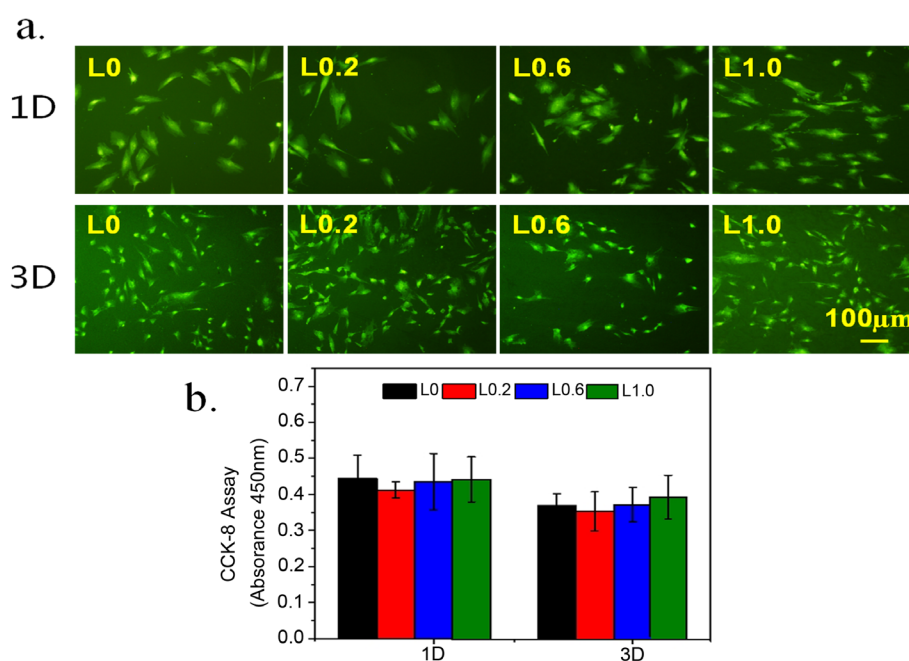


Figure 9. Fluorescent staining (a) and CCK-8 (b) results of smooth muscle cells after static culture for 1 and 3 days (The stretch direction is horizontal)

图 9. 平滑肌细胞静态培养 1 天、3 天后荧光染色 (a) 及 CCK-8 (b) 结果 (拉伸方向为水平方向)

4. 分析与讨论

4.1. 塑性变形对材料特征的影响

支架的扩张过程是一个塑性形变的过程, 本文使用万能试验机对医用不锈钢进行拉伸以模仿支架变形后的状态, 取变形量分别为 20%、60% 和 100%。首先对其材料特征进行了探讨。由前文结果可知, 拉伸会使医用不锈钢的组织由等轴晶粒逐渐变得细长, 并产生滑移带, 当变形量达到一定程度(本文为 100%)时, 各晶粒的位向与拉伸方向趋于一致, 晶粒将会逐渐趋向于整齐排列。由于在拉伸过程中晶粒相对于外力轴发生转动, 随着变形量的增加, 样品表面将逐渐变得粗糙, 而当大多数晶粒聚集到某些取向上来, 晶粒趋向于整齐排列时, 会形成变形织构, 样品表面粗糙度将有所下降。Wenzel 理论认为当粗糙度在微米以及纳米级别时, 粗糙表面使得实际固-液之间的接触面要大于表观观察到的面积, 于是, 当增大固体表面粗糙度时会使得亲水表面更亲水; 而表面能与表面张力越大, 会使得液体在固体表面更易润湿, 使得固体表面更亲水, 水接触角值也更小; 故当样品表面粗糙度越大时, 样品表面能越大, 样品更亲水;

这是样品表面形貌、粗糙度、亲水性及表面能的联系所在。本文的实验结果也与之对应，即当塑性变形量从 0 增加至 60% 时，样品表面逐渐变得粗糙，变得更亲水，且表面能逐渐增大；而当变形量由 60% 增加至 100% 时，样品表面粗糙度轻微减小，亲水性逐渐减弱，表面能逐渐降低。

4.2. 塑性变形对材料表面细胞的影响

细胞在感受细胞内外的力学刺激后，经过一系列的信号通路将力学信号传递到细胞骨架，引起细胞骨架的变构、重组等，并最终将力学信号向下游传导，影响细胞增殖、分化、迁移以及凋亡等一系列生物功能。支架植入之后会与血管壁上的细胞发生作用，内皮细胞的增殖会促进血管支架内皮化，提高血管支架的生物相容性，而平滑肌细胞的生长则会促使支架再狭窄及促进形成新生动脉粥样硬化，因此评价内皮细胞及平滑肌细胞的生长行为对血管支架性能的评价尤为重要。图 10 反应了不锈钢塑性变形后的变化及其作用于动脉粥样硬化区域时对细胞的影响。

由以上实验结果可知，塑性变形对生物医用不锈钢表面的细胞有一定的影响。对于 ECs 而言，塑性变形会影响其生长方向和细胞活性，当变形量达到一定程度(本文为 60%)之后，ECs 的生长方向将会有与拉伸方向平行的趋势；同时，随着塑性变形量的增大，ECs 的细胞活性将会呈现先增大后减小的趋势，在适当变形量(本文为 60%)下，会促进 ECs 的生长，细胞活性达到最大值。对于 SMCs 而言，塑性变形对于细胞活性没有显著性影响，但对细胞的生长方向有一定影响，随着变形量的增大，SMCs 有向平行于拉伸方向生长的趋势。这是因为当塑性变形量逐渐增大时，材料表面的亲水性呈现先增大再慢慢减小的趋势，研究表明，亲水性表面更能促进细胞的生长[17] [18]，在 $\varepsilon = 60\%$ 时，材料最亲水，故 ECs 细胞活性最好。而随着塑性变形量增大，材料表面粗糙度也随之增大，且由于晶粒转动，表面出现凹凸不平导致表面形貌发生变化，当塑性变形量为 60% 时，材料表面的粗糙度达到最大；当塑性变形量达到 100% 时，材料表面出现与拉伸方向平行的变形结构。在 L0.6 组表面，有部分 ECs 和 SMCs 的生长方向趋向于与拉伸方向平行；在 L1.0 组表面，部分 ECs 和大部分 SMCs 的生长方向与拉伸方向平行。据此推测，当材料塑性变形量足够大时(本文为 60%)，材料表面粗糙度变化及产生结构引起的表面形貌的变化会对细胞的生长方向有影响，细胞的生长方向会逐渐与拉伸方向平行。

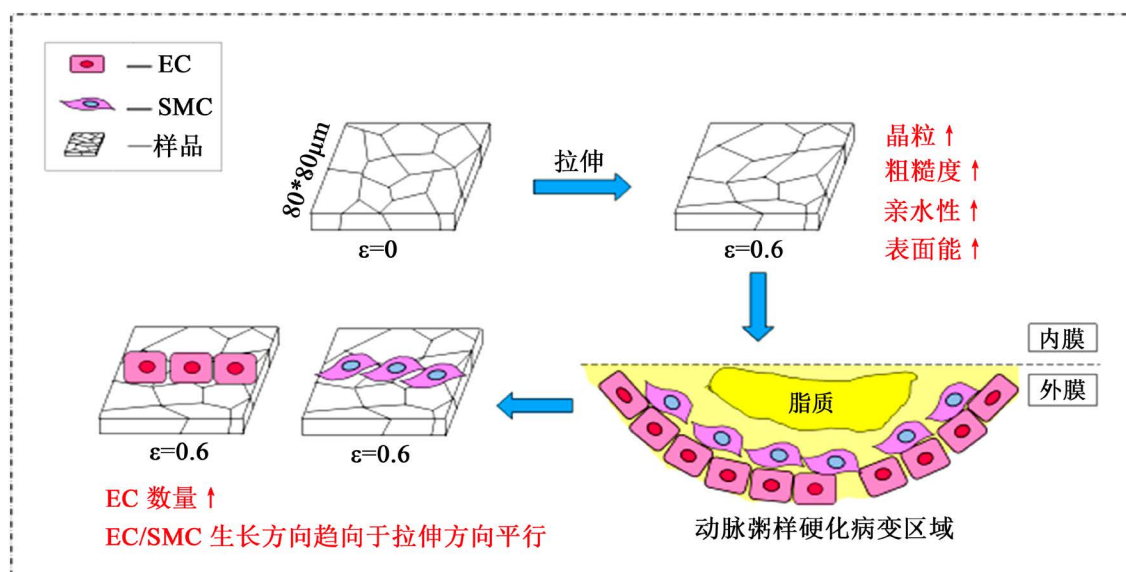


Figure 10. Effect of plastic deformation on material characteristics and surface cells

图 10. 塑性变形对材料特征及表面细胞的影响

5. 结论

1) 通过材料学表征发现, 塑性变形会改变生物医用不锈钢的晶粒大小、表面形貌、表面粗糙度、水接触角大小及表面能大小。当塑性变形量 $\varepsilon = 60\%$ 时, 材料表面粗糙度较大, 亲水性最好。

2) 通过血管壁细胞实验发现, 塑性变形会对生物医用不锈钢表面的细胞活性和生长方向产生影响。当塑性变形量 $\varepsilon = 60\%$ 时, ECs 活性最大, 有利于支架内皮化; 当 $\varepsilon > 60\%$ 时, ECs 与 SMCs 的生长方向趋向于与拉伸方向平行; 塑性变形量对 SMCs 的细胞活性没有显著性影响。

3) 若能对不锈钢支架的构型进行修改, 使其在血管内的扩张尽量呈现均匀塑性变形, 且塑性变形量达到 60%, 此时将促进支架表面 ECs 的生长, 而不会促进 SMCs 的生长, 因此将提高支架的生物相容性, 加快支架植入内皮化。此种思路对血管支架的构型设计具有重要意义。

基金项目

本工作获得国家自然科学基金的资助(No. 31870955#, No. 31470921#)。

参考文献

- [1] 马丽媛, 吴亚哲, 王文, 等. 《中国心血管病报告 2017》要点解读[J]. 中国心血管杂志, 2018, 23(1): 3-6.
- [2] 王晓, 冯海全, 王文雯, 等. 球囊扩张式冠脉支架生物力学性能研究[J]. 中国生物医学工程学报, 2013, 32(2): 203-210.
- [3] Eshghi, N., Hojjati, M.H., Imani, M., *et al.* (2011) Finite Element Analysis of Mechanical Behaviors of Coronary Stent. *Procedia Engineering*, **10**, 3056-3061. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2011.04.506>
- [4] 任庆帅, 任希力, 彭坤, 等. 血管支架在真实狭窄血管模型中扩张过程的模拟研究[J]. 医用生物力学, 2015, 30(6): 488-494.
- [5] Ivanovska, I.L., Shin, J.W., Swift, J., *et al.* (2015) Stem Cell Mechanobiology: Diverse Lessons from Bone Marrow. *Trends in Cell Biology*, **25**, 523-532. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.04.003>
- [6] Peyton, S.R. and Putnam, A.J. (2005) Extracellular Matrix Rigidity Governs Smooth Muscle Cell Motility in a Biphasic Fashion. *Journal of Cellular Physiology*, **204**, 198-209. <https://doi.org/10.1002/jcp.20274>
- [7] Zaari, N., Rajagopalan, P., Kim, S.K., *et al.* (2004) Photopolymerization in Microfluidic Gradient Generators: Micro-scale Control of Substrate Compliance to Manipulate Cell Response. *Advanced Materials*, **16**, 2133-2137. <https://doi.org/10.1002/adma.200400883>
- [8] Gray, D.S., Tien, J. and Chen, C.S. (2003) Repositioning of Cells by Mechanotaxis on Surfaces with Micropatterned Young's Modulus. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **66**, 605-614. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.10585>
- [9] Lo, C.M., Wang, H.B., Dembo, M., *et al.* (2000) Cell Movement Is Guided by the Rigidity of the Substrate. *Biophysical Journal*, **79**, 144-152. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(00\)76279-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(00)76279-5)
- [10] Phd, J.H.-C.W., Yang, G. and Li, Z. (2005) Controlling Cell Responses to Cyclic Mechanical Stretching. *Annals of Biomedical Engineering*, **33**, 337-342. <https://doi.org/10.1007/s10439-005-1736-8>
- [11] Kapur, S., Baylink, D.J. and Lau, K.-H.W. (2003) Fluid Flow Shear Stress Stimulates Human Osteoblast Proliferation and Differentiation through Multiple Interacting and Competing Signal Transduction Pathways. *Bone*, **32**, 241-251. [https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(02\)00979-1](https://doi.org/10.1016/S8756-3282(02)00979-1)
- [12] Kurpinski, K., Chu, J., Hashi, C., *et al.* (2006) Anisotropic Mechanosensing by Mesenchymal Stem Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**, 16095-16100. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604182103>
- [13] Zhang, B., Luo, Q., Chen, Z., *et al.* (2015) Cyclic Mechanical Stretching Promotes Migration But Inhibits Invasion of Rat Bone Marrow Stromal Cells. *Stem Cell Research*, **14**, 155-164. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2015.01.001>
- [14] Virjula, S., Zhao, F., Leivo, J., *et al.* (2017) The Effect of Equiaxial Stretching on the Osteogenic Differentiation and Mechanical Properties of Human Adipose Stem Cells. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, **72**, 38-48. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.04.016>
- [15] Vorselen, D., Roos, W.H., Mackintosh, F.C., *et al.* (2013) The Role of the Cytoskeleton in Sensing Changes in Gravity by Nonspecialized Cells. *Faseb Journal Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental*

Biology, **28**, 536-547. <https://doi.org/10.1096/fj.13-236356>

- [16] Zhang, C., Zhou, L.W., Zhang, F., *et al.* (2017) Mechanical Remodeling of Normally Sized Mammalian Cells under a Gravity Vector. *Faseb Journal Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, **31**, 802-813. <https://doi.org/10.1096/fj.201600897RR>
- [17] Arima, Y. and Iwata, H. (2007) Effect of Wettability and Surface Functional Groups on Protein Adsorption and Cell Adhesion Using Well-Defined Mixed Self-Assembled Monolayers. *Biomaterials*, **28**, 3074-3082. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.03.013>
- [18] 林志立, 梁建平, 庄秀妹. 亲水性钛表面微纳米形貌对人牙周膜成纤维细胞增殖与成骨分化的影响[J]. 中国口腔种植学杂志, 2018, 23(3): 101-104.