

# 微吸管法研究肝癌细胞粘弹性的理论模型<sup>\*</sup>

宋关斌<sup>1</sup>,赵彦华<sup>2</sup>,龙勉<sup>3</sup>,吴泽志<sup>1</sup>,王远亮<sup>1</sup>,王伯初<sup>1</sup>,蔡绍哲<sup>1</sup>

(1. 重庆大学 生物工程学院, 重庆 400044; 2. 重庆一中生物教研室, 重庆 400030; 3. 中国科学院 力学研究所, 北京 100080)

**摘要:**细胞的力学特性与细胞的结构和功能密切相关,细胞粘弹性是细胞的一种本质属性,也是细胞力学特性研究的重要内容,微吸管法是一种在单个细胞水平上研究细胞力学特性的先进手段。为探讨微吸管研究肝癌细胞力学特性的理论和方法,采用连续介质力学的手段,把肝癌细胞看作是均匀连续体,考虑到肝癌细胞在形态和结构上与白细胞没有明显差别,有相似的力学行为,选用标准线性固体模型描述肝癌细胞的粘弹特征,建立了微吸管法研究肝癌细胞粘弹性的理论模型,为这一领域的相关研究提供方法学参考和借鉴。

**关键词:**微吸管;粘弹性;模型

**中图分类号:**Q66

**文献标识码:**A

细胞的受力和变形对细胞的功能和结构有直接的影响,由于在细胞内部存在着极其复杂的细胞骨架网络系统,才使得细胞具有主动变形和抵抗被动变形的能力。细胞的力学特性与细胞的结构和功能密切相关,粘弹性是细胞力学特性研究的重要内容,文中介绍微吸管法研究肝癌细胞粘弹性的理论模型。

## 1 微管吸吮实验系统简介

微管吸吮实验系统由1台倒置显微镜(Axiovert 35, Zeiss Co., Germany)、1套显微操作手(MR5170, Eppendorf Co., Germany)、1套压力控制和记录系统(由重庆大学生物工程学院自行设计)、1台时标发生器(VGI33, For. A. Co. Ltd., Japan)、1套图像摄录系统(NV-HD 100MC, Panasonic Co., Japan)、1套图像处理系统(Vidas 21, Kontron Co., Germany)和微管、圆形小室(chamber, 自行制作)等部分组成,整个系统的连接如图1所示<sup>[1]</sup>。

**方法:**系统连接好以后,将圆形小室放于倒置显微镜的载物台上,调节载物台加热板温度为37℃,向室内轻轻加入约0.5 mL肝癌细胞(SMMC-7721)悬液(浓度约 $1 \times 10^9$ 个/L),用100倍油镜(Plan-Neofluar, 1.30, oil pol)和10倍目镜观察以确定待测细胞,然后用显微操作手缓慢将微管尖端靠近细胞表面,通过压力

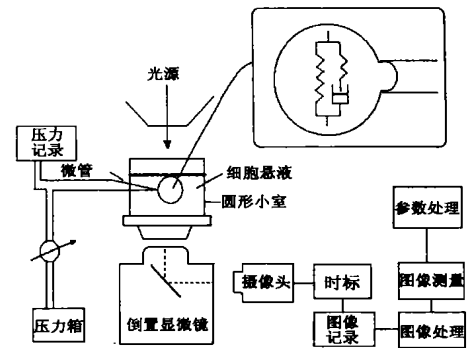


图1 测量细胞粘弹性的微管吸吮实验系统模式图  
控制系统对微管产生一阶跃负压以吸吮细胞,使细胞的一小部分被吸入微管内。细胞在微管内的整个变形过程由电视摄录系统记录,再回放入图像处理系统测量细胞在微管内的变形值。

## 2 微吸管法测量肝癌细胞粘弹性的理论模型

设肝癌细胞是不可压缩的均质粘弹性球形固体,细胞半径为 $R$ ,采用标准线性粘弹性固体模型,该模型由二条平行的“臂”组成,其中一臂为弹性系数 $K_1$ 的弹性元件,另一“臂”由弹性系数 $K_2$ 的弹性元件和粘性系数 $\mu$ 的粘性元件串联组成,如图2。

设 $\sigma_{ij}$ 为细胞内的应力分量,每个分量都是直角坐

\* 收稿日期:2002-12-16

基金项目:国家自然科学基金资助项目(19972077)

作者简介:宋关斌(1968-),男,重庆人,重庆大学副教授,博士,主要从事生物医学工程研究。

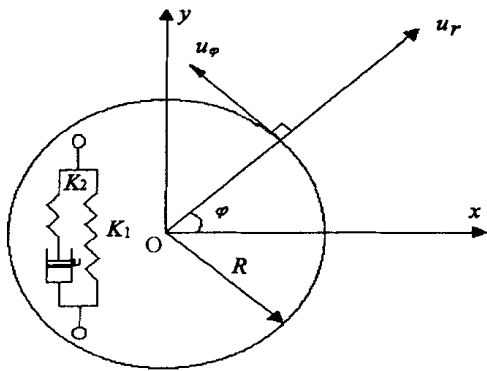


图 2 标准线性粘弹性固体模型

标  $(x, y, z)$  和时间  $t$  的函数, 则应力偏量  $\sigma_{ij}$  为

$$\sigma_{ij} = \tau_{ij} + p \delta_{ij} \quad (1)$$

式中  $\tau_{ij}$  为 kroncker 算子;  $p$  为静水压;  $i, j = x, y, z$

设细胞内点  $(x, y, z)$  处  $t$  时刻的位移为  $u_i$ , 则

Eulerian 应变

$$e_{ij} = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} - \frac{\partial u_k}{\partial x_i} \frac{\partial u_k}{\partial x_j} \right)$$

在小应变条件下, 上式化为

$$e_{ij} = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right) \quad (2)$$

相应的应变偏量  $e_{ij}$  为

$$e_{ij} = e_{ij} - \frac{1}{3} \delta_{ij} e_{kk}$$

由不可压缩条件, 有

$$e_{kk} = \frac{\partial u_k}{\partial x_k} = 0 \quad (3)$$

因此, 得

$$e_{ij} = e_{ij} \quad (4)$$

略去细胞重力和惯性力, 应力平衡方程为

$$\frac{\partial \sigma_{ij}}{\partial x_j} = 0, \text{ 即}$$

$$\frac{\partial \sigma_{ij}}{\partial x_j} = \frac{\partial p}{\partial x_i} \quad (5)$$

由图 2, 细胞本构方程为<sup>[2]</sup>

$$\tau_{ij} + \frac{\mu}{K_2} \frac{\partial \tau_{ij}}{\partial t} = K_1 e_{ij} + \mu \left( 1 + \frac{K_1}{K_2} \right) \frac{\partial e_{ij}}{\partial t} \quad (6)$$

由式(1) ~ 式(6) 可得出 Navier 方程为

$$\frac{1}{J(t)} \nabla^2 u_i = \frac{\partial p}{\partial x_i} \quad (7)$$

式中  $\nabla^2 u_i = (u_i)_{,ij}$

$J(t)$  为蠕变函数, 由式(6) 经 Laplace 变换法可得

$$J(t) = \frac{1}{K_1} \left\{ 1 - \left[ 1 - \frac{K_1}{K_1 + K_2} \right] \exp \left[ - \frac{K_1 K_2}{\mu (K_1 + K_2)} t \right] \right\} \quad (8)$$

上式中令

$$= \frac{\mu (K_1 + K_2)}{K_1 K_2} \quad (9)$$

表示常应力作用下伸长(应变)的蠕变时间常数。

写成张量形式, 式(7) 即

$$\frac{1}{J(t)} \nabla^2 u = \nabla p \quad (10)$$

由式(3) 和式(7) 得

$$\nabla^2 p = 0 \quad (11)$$

在球坐标系  $(r, \theta, \varphi)$  下, 利用球谐函数法, 由式(11)

可知  $p$  可展开为球体谐函数的级数, 设为

$$p = \sum_{n=1}^{\infty} p_n = \sum_{n=1}^{\infty} A_n \left( \frac{r}{R} \right)^n S_n(\theta, \varphi) \quad (12)$$

式中  $P_n = A_n \left( \frac{r}{R} \right)^n S_n(\theta, \varphi)$  为  $n$  阶球体谐函数;

$S_n(\theta, \varphi)$  为  $n$  阶球面谐函数。

方程(10) 的解可由一个特解加上其对应的齐次方程(Laplace 方程) 的通解得到。根据文献[3], 采用球坐标系, 在满足(11) 的条件下, 式(10) 的解为:

$$\mu = \sum_{n=1}^{\infty} \left\{ \frac{(n+3) r^2 J(t)}{2(n+1)(2n+3)} \nabla P_n - \frac{n r J(t)}{(n+1)(2n+3)} P_n + B_n \nabla^n \right\} \quad (13)$$

式中  $P_n$  为  $n$  阶球体谐函数;  $B_n$  为待定系数。

根据对称性, 由式(13) 可得沿  $r$  方向和在子午面上并垂直于  $r$  方向的位移分量分别为

$$u_r = \sum_{n=1}^{\infty} \left\{ \frac{n r J(t)}{2(2n+3)} P_n + \frac{n}{r} B_n P_n \right\} \quad (14)$$

$$u = \sum_{n=1}^{\infty} \left\{ \frac{B_n}{r} \frac{\partial}{\partial \theta} + \frac{(n+3) r J(t)}{2(n+1)(2n+3)} \frac{\partial P_n}{\partial \theta} \right\} \quad (15)$$

由于细胞为实心均质体, 当  $r = 0$  时,  $u_r, u$  必定是有限的, 所以

$$B_n = 0$$

于是式(14)、式(15) 变为

$$u_r = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{n r J(t)}{2(2n+3)} P_n \quad (16)$$

$$u = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(n+3) r J(t)}{2(n+1)(2n+3)} \frac{\partial P_n}{\partial \theta} \quad (17)$$

在细胞表面上,  $r = R$ , 式(12) 成为

$$p = p(\theta, \varphi) = \sum_{n=1}^{\infty} A_n S_n(\theta, \varphi) \quad (18)$$

在轴对称条件下,  $S_n(\theta, \varphi) = L_n(\cos \theta)$ ,  $L_n(\cos \theta)$

为  $n$  阶 Legendre 多项式, 这样, 式(18) 变为

$$p(\theta) = \sum_{n=1}^{\infty} A_n L_n(\cos \theta) \quad (19)$$

按  $L_n(\cdot)$  之性质,有

$$\int_{-1}^1 L_n^2(\cdot) d = \frac{2}{2n+1}$$

因此式(19)中  $A_n$  为

$$A_n = \frac{2n+1}{2} \int_{-1}^1 p(\cdot) L_n(\cdot) d \quad (20)$$

其中

$$p(\cdot) = \begin{cases} P_l, \text{微管内吸压} \\ P_G, \text{微管与 HCC 接触压力} \\ P_o, \text{微管外环境压力} \end{cases}$$

且满足  $\int_S p(\cdot) dS = 0, S = S_l + S_G + S_o$  为细胞表面 (见图 3)。

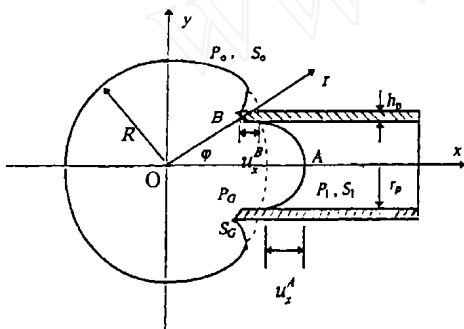


图 3 一个肝癌细胞在微管内的变形

将式(19)代入式(16)、式(17),并考虑在细胞表面上,  $r = R$ , 有

$$[u_r]_R = J(t) R \sum_{n=1}^{\infty} \frac{nA_n}{2(2n+3)} L_n(\cdot) \quad (21)$$

$$[u_\theta]_R = -J(t) R \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(n+3)A_n}{2(2n+3)} \sin L_n(\cdot) \quad (22)$$

由此可得在球面上,  $x, y$  方向的位移分量(见图 2)

$$[u_x]_R = [u_r]_R \cos \theta - [u_\theta]_R \sin \theta \quad (23)$$

$$[u_y]_R = [u_r]_R \sin \theta + [u_\theta]_R \cos \theta \quad (24)$$

利用 Legendre 多项式的递推公式

$$(n^2 - 1)L_n(\cdot) = nL_n(\cdot) - L_{n-1}(\cdot)$$

$$nL_n(\cdot) = L_n(\cdot) - L_{n-1}(\cdot)$$

将式(21)、式(22)代入式(23)、式(24), 可得

$$[u_x]_R = J(t) R \sum_{n=1}^{\infty} \frac{nA_n}{2n^2 + 5n + 3} \cdot \left[ \frac{n+3}{2} L_{n-1}(\cdot) - L_n(\cdot) \right] \quad (25)$$

$$[u_y]_R = J(t) R \sum_{n=1}^{\infty} \frac{A_n(1 - \cos^2 \theta)^{\frac{1}{2}}}{2n^2 + 5n + 3} \cdot \left[ \frac{n+3}{2} L_{n-1}(\cdot) + L_n(\cdot) \right] \quad (26)$$

由图 3 可得, 细胞表面进入微管内的距离  $d(t)$  为

$$|d(t)| = [u_x^A]_R + [u_x^B]_R$$

在 A 点处,  $\cos \theta = \cos \theta_A = 1$ , 在 B 点处,  $\cos \theta = \cos \theta_B = \frac{r_p}{R}$

据此, 由式(25)得

$$|d(t)| = J(t) R \sum_{n=1}^{\infty} \frac{nA_n}{2n^2 + 5n + 3} \left\{ \frac{n+3}{2} \left[ L_{n-1}(1) + L_{n-1}\left(\frac{r_p}{R}\right) - L_n(1) - \frac{r_p}{R} L_n\left(\frac{r_p}{R}\right) \right] \right\} \quad (27)$$

对于给定的细胞、微管和吸压  $P$ , 上式可表示为

$$|d(t)| = J(t) F(R, P, r_p, h_p) \quad (28)$$

其中

$$F = F(R, P, r_p, h_p) = R \sum_{n=1}^{\infty} \frac{nA_n}{2n^2 + 5n + 3} \cdot \left\{ \frac{n+3}{2} \left[ L_{n-1}(1) + L_{n-1}\left(\frac{r_p}{R}\right) - L_n(1) - \frac{r_p}{R} L_n\left(\frac{r_p}{R}\right) \right] \right\}$$

表示  $R, P, r_p, h_p$  的函数。

将式(8)代入式(28), 得到位移  $d(t)$  与时间  $t$  的关系式

$$|d(t)| = \frac{1}{K_1} \left\{ 1 - \left[ 1 - \frac{K_1}{K_1 + K_2} \right] \cdot \exp \left[ - \frac{K_1 K_2}{\mu(K_1 + K_2)} t \right] \right\} F(R, P, r_p, h_p) \quad (29)$$

若吸压  $P$  为常数, 则式(29)可进一步写为

$$|d(t)| = \frac{1}{K_1} \left\{ 1 - \left[ 1 - \frac{K_1}{K_1 + K_2} \right] \cdot \exp \left[ - \frac{K_1 K_2}{\mu(K_1 + K_2)} t \right] \right\} Pf(R, r_p, h_p) \quad (30)$$

上式中  $f(R, r_p, h_p)$  为  $R, r_p, h_p$  的函数。

1) 当  $t = 0$  时, 由式(30)可得

$$|d(t)| = \frac{1}{K_1 + K_2} Pf(R, r_p, h_p) \quad (31)$$

即 
$$\frac{P}{|d(t)|} = \frac{K_1 + K_2}{f(R, r_p, h_p)} \quad (32)$$

式(31)表明, 对于给定的细胞、微管和吸压, 细胞的初始变形为一弹性响应, 变形值与  $K_1 + K_2$  成反比。因此,  $K_1 + K_2$  越大, 细胞初始变形越小, 由式(32)可知, 细胞刚性越大。

2) 当  $0 < t < \infty$  时, 由式(30)可见, 细胞发生的变形为蠕变过程。变形的快慢取决于蠕变时间  $\tau$ ,  $\tau$  越大, 细胞变形越缓慢。

3) 当  $t \rightarrow \infty$  时, 由式(30)可得

$$|d(t)| = \frac{1}{K_1} Pf(R, r_p, h_p) \quad (33)$$

$$\frac{P}{|d(t)|} = \frac{K_1}{f(R, r_p, h_p)} \quad (34)$$

由式(33)可见,对给定的  $R, r_p, h_p, P$ , 细胞发生的最大变形(在小变形条件下)与  $K_1$  成反比。因此,  $K_1$  越大,最大变形越小,由式(34)可知,相应细胞的刚性越大。

### 3 分析与小结

采用连续介质力学的手段研究细胞的力学行为,通常把细胞看作是均匀连续体,Chien(1978)等<sup>[1]</sup>提出了用 Kelvin 模型(一弹性元件和一粘性元件并联)描述红细胞的粘弹性特征, Schmid-Schonbein(1981)等<sup>[4]</sup>则用标准线性固体模型描述白细胞的粘弹性,后来 Dong(1988)等<sup>[5]</sup>提出了具有常张力皮质层的 Maxwell 液滴模型,都能较好地描述白细胞被动变形过程的特征。考虑到肝癌细胞在形态和结构上与白细胞没有明显差别,在悬浮介质中呈球形,保持被动态,膜表面高度皱缩,因此细胞变形时膜表面几乎不承受张力,故肝癌细胞与白细胞有相似的力学行为,再考虑到计算方便,笔者选用标准线性固体模型描述肝癌细胞的粘弹特征<sup>[6-9]</sup>。

微管吸吮技术是一种较好的研究细胞力学特性的先进手段,最早由 Mitchison 和 Swann 提出<sup>[10]</sup>,用于研究细胞吸入微管内的长度随吸压大小的变化。采用这种技术, Rand 等<sup>[11]</sup>将红细胞膨胀成球形,测量膜的弹性模量。Waugh<sup>[12]</sup>在红细胞的自然状态下测量红细胞膜的剪切弹性模量。随着科学技术的发展及相关技术的应用,到了 20 世纪 70 年代,微管吸吮技术逐渐发展成一种在单个细胞水平上研究细胞运动、变形、粘弹性特征以及细胞粘附的重要手段,它通过测量在一定负压作用下细胞的变形时间过程或细胞粘附的临界力值,用以阐明细胞的力学特性和细胞与细胞或基质间的相互作用。由于红细胞结构的简单性和变形过程的典型性,因此人们利用这种技术开始主要在红细胞的变形及理论模型方面做了大量工作<sup>[1,13]</sup>,后来 Evans<sup>[14]</sup>和 Yeung<sup>[15]</sup>利用微管技术研究了白细胞的弹性及粘弹性行为, Sato 等<sup>[16-17]</sup>对血管内皮细胞的弹性及粘附性质进行了系统研究。总之,微吸管技术由于其精度高、重复性好和费用相对不太昂贵等特点而被人们广泛采用。文中介绍了利用微吸管技术研究肝癌细胞粘弹性的方法,并用标准线性固体模型描述肝癌细胞的粘弹特征,有关这部分实验结果,我们将另文报道。

### 参考文献:

- [1] CHIEN S, SUNG K-L P, SKALAK R, et al. Theoretical and experimental studies on viscoelastic properties of erythrocyte membrane[J]. *Biophys J*, 1978, 24: 463 - 487.
- [2] FUNG Y C. *Biomechanics, mechanical properties of living tissues*[M]. New York:Spring-Verlag New York INC, 1981. 41 - 46.
- [3] HAPPEL J, BRENNER H. *Low Reynolds number hydrodynamics* [M]. New Jersey: Prentice-Hall, INC Englewood Cliffs, 1965. 62 - 66.
- [4] SCHMID-SCHONBEIN G W, SUNG K-L P, TOZEREN H, et al. Passive mechanical properties of human leukocytes[J]. *Biophys J*, 1981, 36: 243 - 256.
- [5] DONG C, SKALAK R, SUNG K-L P, et al. Passive deformation analysis of human leukocytes[J]. *J Biomech Engr*, 1988, 110: 27 - 36.
- [6] CHIEN S, SUNG K-L P, SCHMID-SCHONBEIN G W, et al. Rheology of leukocytes[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1987, 516: 333 - 347.
- [7] SCHMID-SCHONBEIN G W. Leukocyte kinetics in the microcirculation[J]. *Biorheology*, 1987, 24: 139 - 151.
- [8] SUNG K-L P, DONG C, SCHMID-SCHONBEIN G W, et al. Leukocyte relaxation properties[J]. *Biophys J*, 1988, 54: 331 - 336.
- [9] 樊学军. 细胞力学[J]. *力学进展*, 1995, 25(2): 197 - 207.
- [10] MITCHISON J M, SWANN M M. The mechanical properties of the red cell surface[J]. *J Exp Biol*, 1954, 31: 443 - 460.
- [11] RAND R P, BURTON A C. Mechanical properties of red cell membrane[J]. *Biophys J*, 1964, 4: 115 - 135.
- [12] WANG H R, EVANS E A. Thermoelasticity of red blood cell membrane[J]. *Biophys J*, 1979, 26: 115 - 132.
- [13] CHABANEL A. Viscoelastic properties of red cell membrane in elliptocytosis[J]. *Blood*, 1989, 73(2): 592 - 597.
- [14] EVANS E, YEUNG A. Apparent viscosity and cortical tension of blood granulocytes determined by micropipette aspiration[J]. *Biophys J*, 1989, 56: 151 - 160.
- [15] YEUNG A, EVANS E. Cortical shell-liquid core model for passive flow of liquid-like spherical cells into micropipettes[J]. *Biophys J*, 1989, 56: 139 - 149.
- [16] SATO M, LEVESQUE M J, NEREM R M. An application of the micropipet technique to the measurement of the mechanical properties of cultured bovine aortic endothelial cells[J]. *ASME J Biomech Engng*, 1987, 109: 27 - 34.
- [17] SATO M. Application of the micropipet technique to the measurement of the cultured porcine aortic endothelial cell viscoelastic properties[J]. *ASME J Biomech Engng*, 1990, 112: 263 - 268.

(下转第 111 页)

- [8] 胡小九. 家兔超数排卵研究进展[J]. 当代畜牧, 2001, (3): 43 - 44.
- [9] 朱洵美, 庄海博. 几种生殖激素诱发家兔超数排卵试验[J]. 中国养兔杂志, 1985, (4): 37 - 38.
- [10] 范必勤, 熊慧卿. 家兔超数排卵的研究[J]. 中国养兔杂志, 1986, (1): 25 - 35.
- [11] 张贵学, 贺桂馨. 超排兔卵巢卵泡腔充血的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 1995, (11): 122.
- [12] GREGORY P W. The potential and actual fecundity of some breeds of rabbits[J]. J EXP Zool, 1932, 62: 271 - 285.
- [13] 谭景和, 秦鹏春. 超数排卵及其存在的问题(综述)[J]. 黑龙江畜牧兽医, 1987, (5): 33 - 37.
- [14] 范必勤, 熊慧卿, 邵春荣. 家兔超数排卵的研究[J]. 中国养兔杂志, 1987, (1): 25 - 30.

## HMG Superovulation in Rabbits

YE Lian-shun<sup>1</sup>, JI Yuan<sup>2</sup>, LU Jing<sup>2</sup>, LIU Dong-zhi<sup>1</sup>, RONG Ying<sup>1</sup>

(1. Chongqing Reproductive Health Centre, Chongqing 400020, China;

2. Chongqing Family Planning Scientific Research Institute, Chongqing 400020, China)

**Abstract:** HMG (made in china), PMSG and hcGon superovulation of 40 female rabbits are studied. Results indicate that the HMG(made in china) has a very good superovulation effect on rabbit. Among the treated animals 90 % responded to the treatment and the average of embryos per rabbits collected is 30.2, 103 embryos were collected. 7.6 embryos were collected per rabbit. The difference is great ( $P < 0.01$ ). The superovulation response of rabbits is better in spring than in Autumn.

**Key words:** rabbit; gonadotrophin; superovulation

(责任编辑 陈移峰)

(上接第 107 页)

## Theory Model of Viscoelasticity of Hepatocellular Carcinoma Cells by Micropipette Aspiration Method

SONG Guan-bin<sup>1</sup>, ZHAO Yan-hua<sup>2</sup>, LONG Mian<sup>3</sup>,

WU Ze-zhi<sup>1</sup>, WANG Yuan-liang<sup>1</sup>, WANG Bo-chu<sup>1</sup>, CAI Shao-xi<sup>1</sup>

(1. College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China;

2. Department of Biology, Chongqing No. 1 Middle School, Chongqing 400030, China;

3. Institute of Mechanics, Chinese Academy of Science, Beijing 100080, China)

**Abstract:** The mechanical properties of cells are relation to their structure and function. Viscoelasticity is a kind of essence properties of cells and an important researching contents in the field of cellular mechanics. Micropipette aspiration technology is an advanced artifice on the level of single cell to study the mechanics of cells. In order to investigate the theory and method in researching mechanical properties of hepatocellular carcinoma cells with micropipette aspiration, hepatocellular carcinoma cells was regarded as an even linear solid and the standard linear solid viscoelastic model was chosen to describe viscoelasticity of hepatocellular carcinoma cells, theory model of viscoelasticity of hepatocellular carcinoma cells by micropipette aspiration was established according to the related papers, it will provide methodology reference for studies in this fields.

**Key words:** micropipette aspiration; viscoelasticity; model

(责任编辑 李胜春)