

東南大學

毕业设计(论文)报告

题 目: 面向生物 3D 打印的细胞迁移

聚集与交联成型规律研究

学 号: 02017502

姓 名: 邵小轩

学 院: 机械工程学院

专 业: 机械工程

指导教师: 孙东科

起止日期: 2021.01-2021.06

东南大学毕业（设计）论文独创性声明

本人声明所呈交的毕业（设计）论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得东南大学或其它教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了谢意。

论文作者签名：_____ 日期：_____年____月____日

东南大学毕业（设计）论文使用授权声明

东南大学有权保留本人所送交毕业（设计）论文的复印件和电子文档，可以采用影印、缩印或其他复制手段保存论文。本人电子文档的内容和纸质论文的内容相一致。除在保密期内的保密论文外，允许论文被查阅和借阅，可以公布（包括刊登）论文的全部或部分内容。论文的公布（包括刊登）授权东南大学教务处办理。

论文作者签名：_____ 导师签名：_____
日期：_____年____月____日 日期：_____年____月____日

摘 要

生物 3D 打印技术在生命科学、制造科学、健康医疗等学科领域有广阔的应用前景与发展空间。本研究以多相场模型为基础,针对生物 3D 打印过程建立了细胞流动-固化模型,开展了细胞打印过程相关模拟,揭示了流场与温度场共同作用下细胞系统迁移聚集与交联成型规律。本研究首先对于细胞系统自由能、速度等公式开展推导,基于细胞参数建立微分方程并利用有限差分法进行数值模拟,以求得定解问题的解析解。其次,本研究利用焓方法模拟多细胞系统在温度场中固化现象,并耦合细胞流动-固化两种行为以建立细胞模型,通过在不同物理条件下开展模拟,探明细胞流动与固化机理。本研究还通过改变细胞物理参数来探究其对于细胞运动的影响,研究发现细胞弹性相关系数越小,单细胞-平板系统中细胞稳定形态细胞形变越大;细胞重叠耗能系数越大,细胞稳定形态边界层越大。本研究有助于生物 3D 打印的生物材料选择、打印过程优化等,对于提高生物 3D 打印物质量与技术发展水平有潜在意义。

关键词: 生物 3D 打印, 数值模拟, 相场法, 焓方法

ABSTRACT

3D bio-printing technology is based on additive manufacturing technology as the basic principle, in view of the core technology idea of discrete-stacking, and faces life sciences, manufacturing sciences, health care and other disciplines. It has broad application prospects and promising development. Based on the phase-field method, this research establishes a cell flow-solidification model for the 3D bio-printing process, and simulates the cell printing process to reveal the migration, aggregation and cross-linking of the cell system under the combined action of the flow field and the temperature field. In this research, the formulas for free energy and velocity of the cell system are firstly derived. Differential equations are established based on the cell parameters and numerical simulations are carried out by the finite difference method to obtain analytical solutions. Secondly, this research uses the enthalpy method to simulate the solidification phenomenon of multi-cell systems in the temperature field, and couples the two behaviors of cell flow and solidification to establish a cell model. Through simulations under different physical conditions, the mechanism of cell flow and solidification is explored. This study also explores its impact on cell movement by changing cell physical parameters. The study finds that the smaller the cell elasticity correlation coefficient, the greater the stable cell shape in the single cell-plate system; the greater the cell overlap energy consumption coefficient, the more stable the cell, and the larger the morphological boundary layer. This research contributes to the selection of biological materials and the optimization of the printing process of 3D bio-printing, and has potential significance for improving the quality of 3D bio-printing and the level of technological development.

KEY WORDS: 3D bio-printing, Numerical simulation, Phase-field method, Enthalpy method

目 录

第一章 绪论.....	1
1.1 引言.....	1
1.2 生物 3D 打印技术与内涵.....	1
1.3 生物 3D 打印技术的发展现状.....	2
1.4 生物 3D 打印技术的模拟研究.....	4
1.4.1 顶点动力学与中心动力学模型.....	4
1.4.2 Potts 模型.....	5
1.4.3 相场法与多相场模型.....	6
1.5 本课题研究内容与意义.....	7
第二章 细胞流动-固化耦合模型及算法	10
2.1 引言.....	10
2.2 基于多相场模型建立细胞模型.....	10
2.3 细胞动力学与细胞流动模型的建立.....	12
2.4 相变传热与细胞固化模型的建立.....	15
2.5 建立细胞流动-固化耦合模型	16
2.6 本章小结.....	17
第三章 基于流动-固化耦合模型模拟结果与规律	18
3.1 引言.....	18
3.2 细胞系统迁移聚集与交联成型模型验证.....	18
3.3 细胞系统随时间演化模拟结果.....	21
3.4 细胞系统迁移聚集与交联成型规律.....	22
3.4.1 不同流动速度下细胞运动规律.....	22
3.4.2 不同温度作用下细胞成型规律.....	24
3.5 本章小结.....	26
第四章 细胞弹性与重叠耗能对细胞系统演化的影响.....	27
4.1 引言.....	27
4.2 细胞弹性与细胞重叠耗能对单细胞-平板系统稳定状态的影响	27

4.2.1 单细胞-平板系统中细胞弹性对细胞形变的影响	27
4.2.2 单细胞-平板系统中细胞重叠耗能对细胞形变的影响	29
4.3 多细胞系统中细胞弹性对于细胞系统演化的影响.....	29
4.4 本章小结.....	32
第五章 总结与展望.....	34
参考文献.....	35
致 谢.....	39

第一章 绪论

1.1 引言

生物 3D 打印技术以增材制造技术为基础原理，将活性生物单元（如细胞、蛋白质、生长因子等）或生物材料作为“生物墨水”，根据仿生形态学、生物体功能、细胞特定环境等要求，基于增材制造的核心技术，自下而上地将“生物墨水”逐层叠加打印，从而制造出具有高复杂度、功能性和个性化的三维生物材料结构或三维生物功能体，是目前一种极具潜力的新型材料成型技术。该技术以重建人体组织和器官为目标，可用于制造修复人体缺损的组织和器官等，代表目前 3D 打印技术的最高水平之一。

本论文将首先综述生物 3D 打印技术的发展现状与国内外对于相关技术的数值模拟研究现状，在此基础上凝练出本领域尚未解决的关键问题，并由此阐述本论文主要研究内容与技术路线。

1.2 生物 3D 打印技术与内涵

生物 3D 打印技术面向生命科学与制造科学等学科领域。基于离散-堆积原理的制造技术目前在生命科学领域内应用越发广泛，因此生物 3D 打印技术的发展潜力也同时日益增长。

生物 3D 打印技术在健康医疗领域中有多层次、多角度的应用，如可利用此技术对于患者建立三维实体模型，直观呈现复杂的病损部位，便于手术方案的提出与具体操作实施；此技术也为个性化精准医疗应用赋能，如根据个体需求打印患者的牙齿、骨骼、关节等^[1]，实现定制化医疗，满足患者个体独特性治疗需求。日前医药市场需求激增，此技术对于解决新药筛选周期长、效率低、成本高等相关问题有重要推动作用。在内科手术治疗与器官移植领域，对于移植器官来源匮乏等问题，生物 3D 打印技术无疑提供一种全新的解决方案。目前，在器官移植领域该技术已取得一些成果，人造皮肤、血管、生物打印仿生心脏等组织或器官已成功制造。

与其余一般 3D 打印技术相区别，利用生物 3D 打印技术制造出的组织器官

具有一定的生物学功能，可为细胞和组织的进一步生长、分化提供生物条件。在细胞或组织的培养过程中，随时间推移，会出现细胞的迁移、聚集、交联成型等现象，其微结构的组成和功能也将演化。因此，生物 3D 打印领域的主要挑战之一是使材料具有与生物材料和打印工艺兼容，并可为组织构造提供所需的功能特性^[2]的特点。因此，发展该技术存在较多挑战与风险，但若克服这些困难，生物 3D 打印技术的发展前景将十分可观。

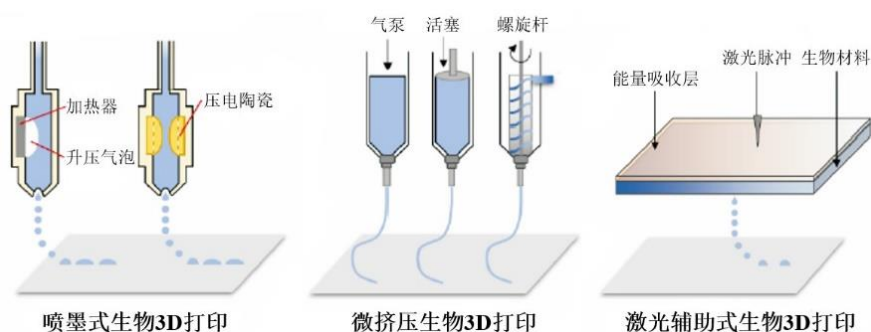


图 1-1 细胞生物 3D 打印技术模式图^[2]

1.3 生物 3D 打印技术的发展现状

按照用于打印材料的生物学性能与所生成打印物的生物相容性进行分类，生物 3D 打印技术主要分为四个层次^[3]，即：利用非降解材料制造的体外医疗器械与医疗模型；利用生物相容的非降解材料制造的永久植入物；利用生物相容且可降解材料制造的组织工程支架；使用细胞、蛋白质与其他细胞外基质制造的体外生物结构体。针对第一、二层次的应用通常为医疗材料或模型的制作，目前已有利用 3D 打印技术制造出高精度连体骨骼模型，成功实现连体婴儿分离等临床引用案例。针对第三层次的应用，卢秉恒等人^[4]利用该技术进行个性化永久植入性组织工程支架制造。

面向细胞进行的第四层次生物 3D 打印技术，是一种在体外构造具有生物活性的三维多细胞体系的全新技术，可以解决无法利用传统组织工程处理或解决的问题，因此得到多领域科研人员的关注。国内外均有较多研究人员在此领域开展研究^[5]并取得一些收获，如 Marga 等人^[6]利用此技术制造“生物纸”，该过程包括类似于早期胚胎发育中经过的细胞分裂、组织分化等过程。Hu 等^[7]提取小鼠的脂肪干细胞，通过生物 3D 打印制备出仿生神经。Johnson 等人^[8]使用有机硅、

明胶与水凝胶作为打印材料，通过微挤压印刷制备空心导管，植入神经缺损的大鼠模型，为其制作人工神经。Choi 等^[9]以脱细胞的骨骼肌细胞外基质作为材料，制备出仿生骨骼肌组织，在体外细胞实验中证明该仿生骨骼肌组织具有良好的细胞活力与机械性能。Shi 等人^[10]利用微流体系统，在打印水凝胶过程的同时加入脂肪间充质干细胞，使其具有生物活性。细胞打印技术是一种构造三维多细胞体系的先进技术，产出的活性多细胞体对于传统组织工程领域难以攻破的问题提出全新的解决方案，即意味着通过细胞打印可以直接构成具有活性的生物组织的组件^[3]如血管、皮肤、仿生组织等组织或器官，在生物医学应用研究中有着广阔的发展前景

细胞生物 3D 打印技术的主要工作方式是将细胞等具有所需生物学功能的材料通过装置组成特定的形体组织并利用喷头通过升压方式挤出，制备活体器官和组织。现阶段细胞生物 3D 打印所采用的成型技术按照工作原理分类，主要分为喷墨、微挤压和激光辅助三种技术。如下表 1-1 所示，三种打印方式具有各自不同的特点^[1,3-5,11,12]。

表 1-1 细胞生物 3D 打印三种打印方法与其特点

	喷墨	微挤压	激光辅助
材料挤出速度 /mPa · s ⁻¹	3.5~12	30	1~300
交联方法	化学、光固化成型	化学、光固化成型、 剪切挤压、高温	化学、光固化成型
准备时间	短	短至中等	中等至高
打印速度	快	较慢	较快
细胞成活率	>85%	40%~80%	>95%
细胞密度	较低	高	中等
材料损耗	低	中	高
打印成本	低	中	高

总体而言，国内生物 3D 打印技术已进入世界先进水平行列，清华大学、中

国肿瘤医院研究所、杭州电子科技大学等高校及研究机构在此方面取得了重要的进展。国内于 2012 年自主研发的生物 3D 打印机能够直接打印出人体活细胞^[13]，该成果被评为当时生物 3D 打印领域的最高水平。

对于目前研究水平而言，真正实现批量化生物 3D 打印的临床应用尚面临诸多挑战，其主要原因与 3D 打印方式、生物材料的选择等有关。打印过程需要综合考虑打印速度，准确性，细胞存活率和细胞活性等。因此，建立可靠模拟细胞迁移流动与交联成型的数学模型，可以针对生物 3D 打印过程中生物材料流动、固化等相关问题提出具有实际参考价值的解决方案，推动生物 3D 打印技术的进一步发展。

1.4 生物 3D 打印技术的模拟研究

为了完成 1.3 中所述对于细胞系统的研究并开展模拟，首先需要根据细胞的实际物理约束条件与特点建立单元模型。目前国内外普遍的几种数值模拟模型包括顶点动力学模型(the vertex dynamics model)、中心动力学模型(the central dynamics model)、Potts 模型、相场模型(phase-field model)等。顶点动力学模型与中心动力学模型均把细胞表征为几个定点组成的多边形^[14-16]，而 Potts 模型将每个元胞表示为一簇网格点，且约束为恒定体积^[3]。以下将简述各模型建立核心思路与其特点，并综合其优劣选择符合本研究所需的模型作为基础模型。

1.4.1 顶点动力学与中心动力学模型

顶点动力学模型通过建立由数个多面体细胞组成的细胞聚集体的三维细胞模型，来开展对于细胞在外力作用下的变形和重新排列相关研究。多面体细胞填充聚合体中的空间无间隙或重叠，由收缩界面组成并保持其体积。界面和细胞体积通过三维顶点坐标表达，顶点运动沿重排细胞具有最小化细胞总自由能方向进行^[14,17]。

细胞总自由能包括细胞的界面能和细胞的压缩或膨胀能。通过计算机模拟，可以得到以下结果：首先，细胞总是聚集成球形，以减少单个细胞的表面积；其次，细胞的多边形界面保持平滑；以及在缺乏自由空间的情况下，细胞团中的细胞仍可以移动和重新排列。

在中心动力学模型中，为表达细胞分裂需要在现有节点附近添加一个新节点。与顶点动力学模型一样，中心动力学模型把细胞表征为几个定点组成的多边形；中心动力学模型与定点动力学模型具有类似的模拟结论。

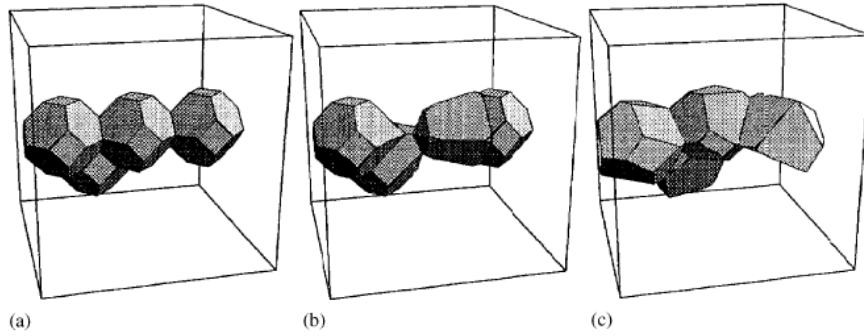


图 1-2 顶点动力学模型关于多面体细胞组成聚体示意图^[14]

1.4.2 Potts 模型

Potts 模型由金属学家首次提出，目的是从准微观的角度研究金属材料中原子组成的颗粒生长规律，其晶粒生长与细胞在特定物理条件下具有相似特征。学者已利用 Potts 模型进行不同学科与材料的数值模拟，包括对金属材料颗粒生长、合金泡沫演化、细胞迁移、胚胎发育、癌细胞扩散等现象^[18-23]开展模拟。由于模型本身相对简单，Potts 模型具有较好的仿真速度^[18]。

为了在二维格点空间对多细胞系统进行建模，Potts 模型对每一个格点 (i, j) 赋予标签 σ_{ij} ，标签值相同的格点可以认为处于同一细胞中。定义耦合常数 $J_{\sigma_{ij}\sigma_{i'j'}}$ 描述不同标签的格点间相互作用的大小，表示细胞表面相互作用。在物理含义上， J 值的总和对应整个系统内所有细胞相互作用的能量总和，即该系统的总汉密顿量(Hamiltonian) H 。在通常的系统中，可以假设只有有限种类的细胞，并且其相互作用只取决于细胞类型。因此可以引入一个用以标志细胞类型的标签 $\tau(\sigma_{ij})$ 对模型进行简化。

Grancer 等人^[19]利用二维 Potts 模型来模拟二维聚集体中的细胞分化，Potts 模型可以限制细胞大小，并允许不同细胞类型之间存在不同的表面能。Käfer 等^[20]利用 Potts 模型描述生物细胞的介观性质，如尺寸和变形性等特点，并建立了一个多尺度基于细胞的蒙特卡罗模型。Honda 等^[21]模拟了细胞分裂时囊胚壁多边形

图案的变化,并验证该方法能够有效地描述包括细胞分裂在内的细胞边界形态的变化。Guisoni 等^[22]基于 Potts 模型对 2D 基板上的随机细胞进行模拟,在相同细胞参数下绘制出四种不同位移轨迹图像,并发现当细胞驱动力相同时,当恒定驱动力被施加于单独细胞时,就会产生恒定速度的运动。即在该模型中,该驱动力的强度是恒定的,并在平均时间内沿相同方向施加。Willis 等^[23]在小空间尺度的范围内基于 Potts 模型开展模拟,通过引入外部场,将此方法扩展到更广义的哈密顿量中。这些应用均对于本研究有重要启发。

1.4.3 相场法与多相场模型

相场法(Phase field method)以 Ginzburg-Landau 理论为物理学基础,是一种在处理多相界面问题上具有优势的数学方法。其核心思想为利用序参量(Order-parameter)的梯度追踪相变界面,以及系统总是沿能量最小化的方向演化。相场法避免追踪界面,极大节省处理界面网格所需要的时间。同时相场模型的物理特性使其易与其它外场相结合,便于研究多场耦合系统问题。

多相场模型基于相场模型,通过多个序参量变量来描述各细胞系统的自由能,该序参量变量的分量数目等于系统中单元的总数。具体而言,一个细胞的形状由序参量变量的一个组成部分表示,该序参量(即对于当前细胞的细胞参数)基于时间的演化由偏微分方程对时间求偏导以求解。通过使用辅助变量来计算细胞单元之间的相互作用,可以设计出占用较少计算机内存的程序,即多相场模型可以用来描述包含大量细胞单元的系统。

多相场模型与上述多细胞系统模型的不同之处在于,由于相场法将相边界界面视为有限宽度的扩散界面,因此不需要采用额外的变量即可以表示细胞膜或边界层位置。同时不必明确跟踪各细胞边界,在大量细胞集体计算条件下保有很好的运算速度。由于将各个细胞分别描述,各细胞的机械能和速度均可以分别表示。该模型也可以描述非常大的变形,可以很好地模拟可能出现的由于较软边界而出现较大变形的细胞。

相场模型被广泛应用于细胞扩散、细胞聚集、晶体生长等问题。Shao 等人^[24]利用多相场模型,考虑细胞膜的弯曲力和细胞的表面张力等建立鱼角膜细胞模型。Palmieri 等^[25]依照动力学方程建立多相场模型,集中描述单层细胞的状态,并对

于癌细胞在细胞群体中迁移扩散-形成肿瘤的行为进行模拟，这与生物 3D 打印过程中生物材料由流动转为固化的过程存在相似之处。Biner^[26]根据相应细胞学理论建立的基本细胞模型与 Palmieri 等人所建立的模型基本一致，并注意到由于细胞动力学方程的非活动项由非自平衡热力学原理自洽导出，因此从建立机理上与不在分裂期的细胞行为更接近。即此模型需要基于细胞处于既不在分裂期，也不在生长周期的假设。在具体讨论细胞集体迁移过程中，Shao 等^[27]采用多相场模型模拟细胞依赖肌球蛋白的收缩力以及细胞和底物之间通过粘附位点传递的力，并重点关注肌动蛋白聚合产生力。此多相场模型由引入源项与增加细胞内部自由度扩展其复杂程度，并在所设定的单元格层面上保留每个细胞的形状与运动速度矢量。根据其模拟结果，得到细胞速度和细胞表面形态是由肌动蛋白聚合，肌球蛋白收缩，粘附力和膜力的综合作用决定的。

综合以上 1.4.1-1.4.3 中对于已有文献与研究成果的调研，考虑到本研究面向的细胞群体细胞数目较多，并需要关注其界面变形与特点，流动与固化过程中需要了解各细胞运动状态，因此确定基于多相场模型建立细胞的基本模型，并在此基础上针对相应物理条件进行扩展。

1.5 本课题研究内容与意义

在生物 3D 打印技术的发展过程中，限制其大规模实现应用的主要因素为其对活性生物单元与生物材料较高的可打印性要求。可打印性指生物材料在时间和空间维度上精准堆积、可控成型的能力，具体而言，在打印前生物材料需要呈流体，具有合适粘度使其既能从喷嘴内依所需滴落、又不至堵塞喷嘴；在液滴滴落后需要迅速在外界紫外线或固化温度的条件下成型，形成具有逐层结构的组织或器官。此性能直接影响生物 3D 打印产品的尺寸精度与成型能力。因此，在打印过程中，作为“生物墨水”的生物材料的流动与固化现象格外值得关注。

对于生物材料而言，其主要包括活性细胞与促进细胞存活、增殖、分化的如细胞外基质等材料，如图 1-3 所示。其中活性细胞的迁移聚集、交联成型现象，很大一部分程度上能反应生物材料整体的流动、固化现象。建立一种能够可靠模拟细胞迁移流动与交联成型的数学模型，对于解决生物 3D 打印过程中生物材料

流动、固化等与可打印性相关的问题具有重要意义，填补目前研究在此方面的空缺。因此，本研究以获得生物 3D 打印过程中细胞流动与固化模型、揭示细胞迁移聚集与交联成型规律为主要研究目标，通过建立模型并开展面向生物 3D 打印过程的数值模拟，达到推动技术的应用与发展的长期目标。

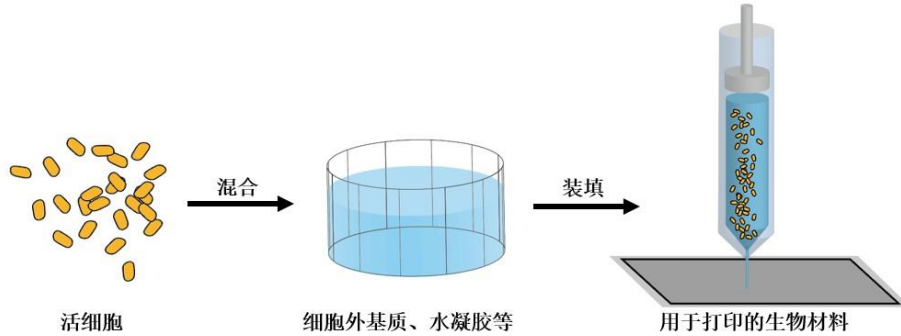


图 1-3 生物材料主要成分示意图

为完成以上目标，本研究拟按照图 1-4 中所述技术路线开展研究。通过建立基本细胞模型、建立细胞迁移聚集模型、建立细胞交联成型模型三个层次对细胞系统的流动与固化现象进行分析；在此基础上，耦合细胞迁移聚集模型与细胞交联成型模型，建立一完整描述细胞流动-固化过程的数学模型，以此开展面向实际生物 3D 打印过程的模拟，并对模拟结果进行归纳与总结。

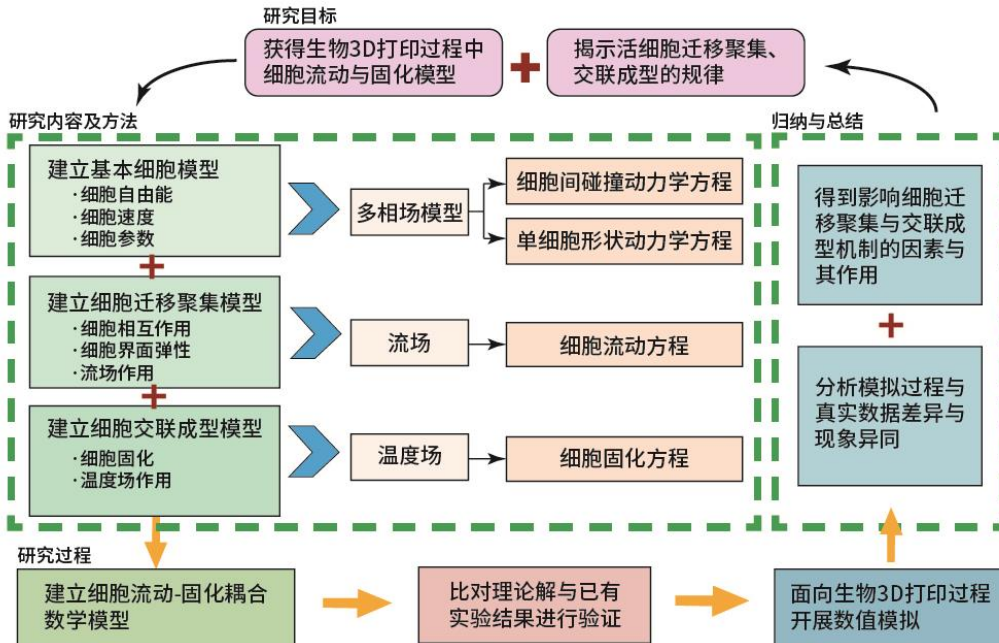


图 1-4 本研究技术路线图

本研究各章针对以上研究内容展开，其内容安排如下：

- (1) 第二章中，利用多相场模型建立基本细胞模型，基于细胞形状动力学、热力学等理论，推导细胞自由能函数与速度等方程，对于微分方程利用有限差分法求细胞参数的定解。基于焓方法计算细胞所处温度场的温度更新，模拟细胞在温度场中的固化现象，利用有限体积法求解微分方程。根据实际物理含义耦合细胞迁移模型与交联模型，给出具体算法框图，构建符合研究目标的耦合模型。
- (2) 第三章中，对于第二章构建的耦合模型进行有效性与可靠性验证，针对生物 3D 打印过程开展模拟。对于打印过程中细胞的流动、固化等具体问题给出模拟结果，通过分析不同参数下模拟结果，总结细胞迁移聚集与交联成型规律，达到本研究的主要目标。
- (3) 第四章主要探究细胞自身物理参数对其运动特点的影响。首先分析细胞弹性系数、细胞重叠耗能对于单细胞-平板系统中稳定状态的细胞形态的影响。并将细胞弹性问题衍生至多细胞系统，通过不同细胞弹性的细胞处于同一系统中并随时间变化开展模拟，探究细胞弹性对于细胞变形作用机制。

第二章 细胞流动-固化耦合模型及算法

2.1 引言

为面向生物 3D 打印过程开展模拟，需要建立能够完整描述细胞迁移聚集与交联成型行为特征的数学模型。本章在第一章的研究基础上，利用多相场模型建立基本细胞模型并基于三点基本假设简化模型。基于细胞形状动力学、热力学等理论，推导细胞自由能函数与速度等方程，对于微分方程利用有限差分法求细胞参数的定解。本章第四节基于焓方法计算细胞所处温度场的温度更新，模拟细胞在温度场中的固化现象。本章第六节根据实际物理含义耦合细胞迁移模型与交联模型，给出具体算法框图，构建符合研究目标的耦合模型。

2.2 基于多相场模型建立细胞模型

为使模型建立机理上符合多相场模型的建立依据，并在合理情况下简化计算过程，提出以下对于细胞模型的假设：

- (1) 由于细胞在从喷嘴中流出后，在基板上按照所需打印物性能单层排布，因此可将基板上的细胞视为二维，忽略其在三维空间内的堆积以达到简化模型、提高运行效率的目的。
- (2) 在打印过程中，所有细胞既不大、也不分裂。在一个细胞周期内，大部分时间细胞均处于不分裂期，仅有少数时间细胞进行分裂，因此忽略细胞的分裂行为。
- (3) 细胞形态依赖于表面积最小原则，即细胞界面总有收缩的趋势。

结合多相场模型，将每个独立细胞视为一个独立的细胞场 (cell field) $\varphi_n(x, y, t)$ ，其中 (x, y) 用以表达格点坐标， t 为时间变量， n 作为下标标记该细胞场序号。 φ 为细胞参数 (cell parameter) 对应于相场法中设定的序参量，用于表征该点该时刻是否位于细胞内。该点位于细胞内时 $\varphi = 1$ ，该点位于细胞外时 $\varphi = 0$ ， $0 < \varphi < 1$ 表明该点处于细胞界面上。基于细胞场动力学方程，描述细胞自由能随时间变化方程如下：

$$\frac{\partial \varphi_n}{\partial t} + v_n \cdot \nabla \varphi_n = - \frac{1}{2} \frac{\delta F}{\delta \varphi_n} \quad (2.1)$$

其中， F 为单层细胞自由能， v_n 代表该点平移速度， δ 表征泛函导数。以上均为无量纲参数，在开展运算前需要将实际参数进行无量纲化处理。

根据细胞形态学与细胞动力学，建立单层细胞自由能方程如下：

$$F = F_o + F_{int} \quad (2.2)$$

即单个总自由能分为两项， F_o 基于二维平衡态细胞形态学方程建立，使单个细胞总体积大致不变； F_{int} 基于细胞动力学建立，描述细胞与相邻细胞相互作用情况下细胞自由能变化。以下分别对于 F_o 与 F_{int} 给出具体表达式：

$$F_o = \sum_n \left[\gamma_n \int_V \left[(\nabla \varphi_n)^2 + \frac{30}{\lambda^2} \varphi_n^2 (1 - \varphi_n)^2 \right] dV + \frac{\mu_n}{\pi R^2} \left(\pi R^2 - \int_V (\varphi_n^2) dV \right)^2 \right] \quad (2.3)$$

其中， γ_n 为细胞由于弹性响应产生的形变， R 表示未因接触产生形变的细胞的当量半径， λ 表示细胞边界层宽度， μ_n 为与细胞面积变化消耗能量相关的参数。

上式第一项对应于具有梯度能的标准保守场的 Cahn-Hilliard 方程形式^[26]。上式最后一项用于限制单个细胞的总体积，在细胞既不分裂、也不长大的假设前提下，细胞总体积维持大致不变。由于模拟需要将三维体积转化为二维体现，此处可以理解为细胞体积在基板上的投影面积。同时在实际模拟过程中，注意到应当选择合适的 μ_n 值使细胞在变形时具有聚集的趋势^[25]，与实际物理现象相符。

描述细胞间相互作用引起的自由能变化的 F_{int} 表达式如下：

$$F_{int} = \frac{30\kappa}{\lambda^2} \int_V \left(\sum_{n,m \neq n} \varphi_n^2 \varphi_m^2 \right) dV \quad (2.4)$$

其中 φ_n 与 φ_m 表示不同细胞标签的细胞， κ 表示不同细胞重叠时消耗能量。注意到在实际实验中，细胞边界倾向于不重叠，因此与 μ_n 相同地，需要选择合适的 κ 值使细胞在聚拢的同时不倾向于重叠。

将 F_o 与 F_{int} 代入上式，得到以下方程：

$$\begin{aligned} \frac{\partial \varphi_n}{\partial t} = & \gamma_n \nabla^2 \varphi_n - \frac{30}{\lambda^2} \left[\gamma_n \varphi_n (1 - \varphi_n) (1 - 2\varphi_n) + 2\kappa \sum_{m \neq n} \varphi_n \varphi_m^2 \right] \\ & - \frac{2\mu}{\pi R^2} \varphi_n \left[\int_V (\varphi_n^2) dV - \pi R^2 \right] - v_n \cdot \nabla \varphi_n \end{aligned} \quad (2.5)$$

查阅相关文献与资料^[24-26,28,29]，得到在通常模拟情况下可将各细胞视为均一的，即细胞具有相同弹性系数、边界层宽度等。由于模拟过程存在格点长、宽的限制，

因此需要设定合适的边界条件。考虑设定连续周期性边界条件^[30-32]，即可由模型中细胞表现形式推广至基板全局表现形式，符合建立模型的预期。

2.3 细胞动力学与细胞流动模型的建立

细胞平移速度 v_n 可分为两部分， $v_{n,I}$ 视为细胞活跃速度项，由细胞间相互碰撞所造成； $v_{n,A}$ 视为细胞内在速度项，由于细胞自身维持活性所发生的的一系列生物、化学反应所产生。即细胞速度 v_n 由以下表示：

$$v_n = v_{n,I} + v_{n,A} \quad (2.6)$$

根据细胞动力学原理，计算细胞间碰撞时细胞由于弹性恢复大致为圆形的平衡态的速度，可以得到细胞活跃速度项 $v_{n,I}$ 的表达式^[33,34]：

$$v_{n,I} = \frac{60\kappa}{\lambda^2\xi} \int_V \left(\varphi_n (\nabla \varphi_n) \sum_{m \neq n} \varphi_m^2 \right) \quad (2.7)$$

其中 ξ 用于描述细胞与液体间摩擦，在系统细胞外各点视为均一的。 λ 表示细胞边界层宽度， κ 表示不同细胞重叠时能量耗散量。由于活细胞永远不会达到热力学平衡状态，因此可以将细胞内在速度 $v_{n,A}$ 视为恒定值，且方向是随机的。代入式中，得到随时间变化的细胞速度 v_n 表达式：

$$v_n = v_{n,A} + \frac{60\kappa}{\lambda^2\xi} \int_V \left(\varphi_n (\nabla \varphi_n) \sum_{m \neq n} \varphi_m^2 \right) \quad (2.8)$$

将此公式代入式（1）中，可以得到细胞流动时随时间变化状态方程：

$$\begin{aligned} \frac{\partial \varphi_n}{\partial t} = & \gamma_n \nabla^2 \varphi_n - \frac{30}{\lambda^2} \left[\gamma_n \varphi_n (1 - \varphi_n) (1 - 2\varphi_n) + 2\kappa \sum_{m \neq n} \varphi_n \varphi_m^2 \right] \\ & - \frac{2\mu}{\pi R^2} \varphi_n \left[\int_V (\varphi_n^2) dV - \pi R^2 \right] - \left[v_{n,A} + \frac{60\kappa}{\lambda^2\xi} \int_V \left(\varphi_n (\nabla \varphi_n) \sum_{m \neq n} \varphi_m^2 \right) \right] \cdot \nabla \varphi_n \end{aligned} \quad (2.9)$$

并注意到此方程中包含细胞参数梯度、细胞参数拉普拉斯算子、细胞参数对时间偏导数等，需要基于分步离散的思想，并利用恰当的数值模拟方法进行近似化求解此方程，从而得到细胞参数随时间变化规律。

如上式(2.5)、(2.9)中，出现 $\nabla^2 \varphi_n$ 、 $\nabla \varphi_n$ 等细胞参数的梯度项与细胞参数的拉普拉斯算子，相应数学公式为：

$$\nabla \varphi_n(x, y) = \left\{ \frac{\partial \varphi_n}{\partial x}, \frac{\partial \varphi_n}{\partial y} \right\} = \varphi_{nx}(x, y)\bar{i} + \varphi_{ny}(x, y)\bar{j} \quad (2.10)$$

$$\nabla^2 \varphi_n = \sum_{i=1}^n \frac{\partial^2 \varphi_n}{\partial x_i^2} \quad (2.11)$$

为在每一时间步长上求出式(2.9)的解，需要求得上述微分方程在每一时刻的定解。利用传统方法往往不易计算定解问题的解析解，因此需要采取数值模拟方法对其进行求解。本研究利用有限差分方法(finite difference method, FDM)进行求解，按照适当网格划分其定义域，把原问题离散化为差分格式进而求解，可以求得偏微分或常微分方程的定解问题的数值解。有限差分法较为灵活，在划分网格后可以利用五点差分格式、九点差分格式等格式开展计算，较适用于计算机实现。五点差分格式取所求点周围四点进行梯度与拉普拉斯算子的计算，以下分别简述其数学原理。

对于细胞拉普拉斯算子的计算，首先需要划分网格，其划分方式如下图 2-1 所示，取所求点坐标周围四点进行计算。设所划分网格边长为 h ，则四点坐标分别为 $\varphi_n(x+h, y)$ ， $\varphi_n(x-h, y)$ ， $\varphi_n(x, y+h)$ ， $\varphi_n(x, y-h)$ 。

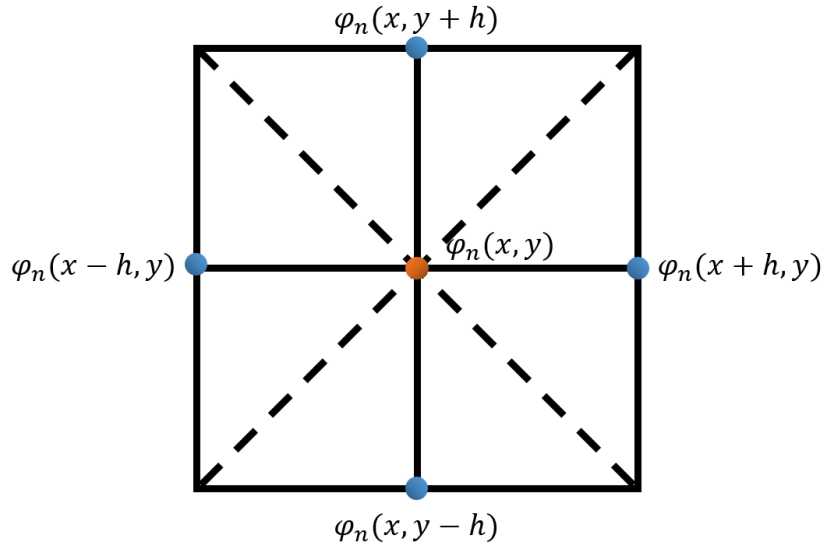


图 2-1 五点差分格式示意图

分别对于周围各点细胞参数进行泰勒级数展开，则有：

$$\begin{aligned}
 \varphi_n(x+h, y+h) &= \varphi_n(x, y) + h\left(\frac{\partial}{\partial x} + \frac{\partial}{\partial y}\right) + \frac{h^2}{2!}\left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + 2\frac{\partial^2}{\partial x \partial y}\right)\varphi_n(x, y) + \dots \\
 \varphi_n(x-h, y-h) &= \varphi_n(x, y) - h\left(\frac{\partial}{\partial x} + \frac{\partial}{\partial y}\right) + \frac{h^2}{2!}\left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + 2\frac{\partial^2}{\partial x \partial y}\right)\varphi_n(x, y) + \dots \\
 \varphi_n(x-h, y+h) &= \varphi_n(x, y) - h\left(\frac{\partial}{\partial x} - \frac{\partial}{\partial y}\right) + \frac{h^2}{2!}\left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} - 2\frac{\partial^2}{\partial x \partial y}\right)\varphi_n(x, y) + \dots \\
 \varphi_n(x+h, y-h) &= \varphi_n(x, y) + h\left(\frac{\partial}{\partial x} - \frac{\partial}{\partial y}\right) + \frac{h^2}{2!}\left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} - 2\frac{\partial^2}{\partial x \partial y}\right)\varphi_n(x, y) + \dots
 \end{aligned} \tag{2.12}$$

将上式（2.12）左侧项与右侧项分别相加，可得：

$$\begin{aligned}
 &\varphi_n(x+h, y+h) + \varphi_n(x-h, y-h) + \varphi_n(x-h, y+h) + \varphi_n(x+h, y-h) \\
 = &4\varphi_n(x, y) + 4 \cdot \frac{h^2}{2!}\left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2}\right)\varphi_n(x, y) \\
 &+ 4 \cdot \frac{h^4}{4!}\left(\frac{\partial^4}{\partial x^4} + \frac{\partial^4}{\partial y^4} + 6\frac{\partial^4}{\partial x^2 \partial y^2}\right)\varphi_n(x, y) \\
 &+ 4 \cdot \frac{h^6}{6!}\left(\frac{\partial^6}{\partial x^6} + \frac{\partial^6}{\partial y^6} + 15\nabla^2 \frac{\partial^4}{\partial x^2 \partial y^2}\right)\varphi_n(x, y) + \dots \\
 = &4\varphi_n(x, y) + 2h^2\nabla^2\varphi_n(x, y) + \frac{h^4}{6}\left(\nabla^4 + 6\frac{\partial^4}{\partial x^2 \partial y^2}\right)\varphi_n(x, y) \\
 &+ \frac{h^6}{180}\left(\nabla^6 + 15\frac{\partial^4}{\partial x^2 \partial y^2}\right)\varphi_n(x, y) + \dots
 \end{aligned} \tag{2.13}$$

对上式（2.13）进行移项整理，可得：

$$\nabla^2\varphi_n(x, y) = \frac{1}{2h^2} \left[\begin{array}{c} \varphi_n(x+h, y+h) + \varphi_n(x-h, y-h) \\ + \varphi_n(x-h, y+h) + \varphi_n(x+h, y-h) - 4\varphi_n(x, y) \end{array} \right] + o(h^2) \tag{2.14}$$

其中余项 $o(h^2)$ 具有二阶精度。即可通过格点与其周围四点细胞参数值求得该点细胞参数的拉普拉斯算子。

计算细胞梯度方法与计算拉普拉斯算子方法相似，网格划分方式与图 2-1 所示一致，设所划分网格边长为 h ，利用周围对角线上四点对于细胞参数的梯度求解。由于梯度为矢量，在计算过程中投影至 x, y 坐标轴上，分别计算出 $\varphi_{nx}(x, y)$ 、 $\varphi_{ny}(x, y)$ 两坐标轴上分量，求矢量和即为上式（2.10）中所表达的细胞参数梯度的物理意义。

$$\begin{aligned}\varphi_{nx}(x, y) &= \frac{1}{2h} [\varphi_n(x + h, y + h) - \varphi_n(x - h, y + h)] \\ \varphi_{ny}(x, y) &= \frac{1}{2h} [\varphi_n(x + h, y - h) - \varphi_n(x - h, y - h)]\end{aligned}\quad (2.15)$$

如上式，细胞参数梯度可利用周围四点细胞参数值求得。

2.4 相变传热与细胞固化模型的建立

在外加温度场的影响下，细胞将出现固化现象。细胞在固化时将会放出热量，对于系统温度场将产生影响，如果利用传统方法跟踪每个细胞边界，计算将十分复杂。通常可采用温度回升法(the temperature recovery method)、等效热容法(the effective heat capacity method)、焓方法(the enthalpy method)等方法模拟此类现象。本研究利用焓方法针对多细胞系统建立固化模型，系统总焓定义为显热热容和相变潜热之和，焓关于温度变化的函数如下式^[35]：

$$H = C_p T + f \cdot L \quad (2.16)$$

其中 H 代表系统总焓， C_p 为等压比热容， T 为控制体积内平均温度。 f 为A相的相分数，用于描述该相当前时刻占据的体积分数，即当该区域全部由B相占据时，A相的相分数为0，当该区域全部由A相占据时，A相的相分数为1。在经历相变过程时，该控制体积的相分数在0至1之间变化。在该模型中取液相为A相，即 f 代表当前时刻的液相率。 L 代表相变潜热。

对于经历相变过程的纯物质而言，系统总焓为以下关于温度的分段函数：

$$H = \begin{cases} C_p T, & T < T_m \\ C_p T + L, & T > T_m \end{cases} \quad (2.17)$$

然而在数值模拟角度而言，不连续的函数在计算机模拟过程中通常难以跟踪，尤其是高次数计算过程中容易出现需要进行一些处理，如引入参数以保持其数值稳定性^[35-37]。引入相变半径 ϵ ，使其满足式

$$T_s = T_m - \epsilon, T_l = T_m + \epsilon \quad (2.18)$$

即：

$$f = \frac{T - T_s}{2\epsilon} \quad (2.19)$$

将引入的相变半径 ϵ 代入上式(2.17)，则系统总焓关于温度的函数为：

$$H = \begin{cases} C_p T, T < T_s \\ C_p T_s + \left[C_p + \frac{L}{2\epsilon} \right] (T - T_s), T_s \leq T \leq T_l \\ C_p T + L, T > T_l \end{cases} \quad (2.20)$$

由于在各时刻系统总焓的变化是连续的，在模拟过程中稳定性通常较好，因此将上式(2.20)转换为各点温度关于系统总焓的函数：

$$T = \begin{cases} H/C_p, H < H_s \\ T_s + \left[\frac{2\epsilon}{L + 2C_p\epsilon} \right] (H - H_s), H_s \leq H \leq H_l \\ (H - L)/C_p, H > H_l \end{cases} \quad (2.21)$$

其中， H 表示该时刻该点系统总焓， L 代表相变潜热，在假设系统等压比热容 C_p 恒定的情况下有 $H_s = C_p T_s$ 、 $H_l = C_p T_l + L$ ，对应式(2.20)中 T_s 与 T_l 。基于时间对该式进行离散以便利用计算机开展计算，得到下式：

$$H_p^k = C_p T_p^k + f_p^{k-1} \cdot L \quad (2.22)$$

$$f_p^k = \begin{cases} 0, & H_p^k < H_s \\ \frac{H_p^k - H_s}{H_l - H_s}, & H_s \leq H_p^k \leq H_l \\ 1, & H_p^k > H_l \end{cases} \quad (2.23)$$

其中上标 k 代表运行次数，下标 p 代表该点坐标，其余各参数物理含义均与上述一致。具体对于温度场的求解拟利用有限体积法求解。

2.5 建立细胞流动-固化耦合模型

如 2.1-2.3 中所述，表示网格上某点是否在某细胞内的细胞参数 $\varphi_n(x, y)$ 为随时间变化函数，在依赖计算机进行的运算过程中基于时间进行离散，通常取一个较小时间步长认为在该步长上细胞参数连续变化，以求得该时刻该点细胞参数的数值解。

在实际生物 3D 打印过程中，细胞系统处于流场与温度场中，从喷嘴中滴落到基板后在 xOy 平面内无加速度、具有定向流动的速度，为使细胞交联成型基板边界为恒定的高温边界，使得细胞从重叠状态释放后逐步随温度升高而固化。因此，通过细胞参数建立细胞流动-固化耦合模型，其算法框图如下图 2-2 所示。

具体而言，建立耦合模型需要结合细胞处于流场中与周围细胞弹性碰撞发生形变、与自身在外加流场中流动所产生的细胞参数变化与细胞在温度场中由于温度升高而固化所引起细胞速度改变，以更新细胞参数在所有影响作用下的变化。在初始化后，首先计算细胞的弹性形变项与流动项，其次计算各格点总焓并根据判据判断格点处温度是否使细胞固化。若已达到细胞固化的临界温度，则更新细胞速度，同时细胞固化放出热量对温度场也有相应的影响；若未达到细胞固化的临界温度，则不作处理。更新格点温度后输出当前时刻的图像，增加一时间步长并保存当前各格点更新后温度、细胞参数等，开展下一时刻的计算。

Data: Cell parameter ϕ_n , Cell enthalpy H , Cell velocity v_n
Result: New cell parameter ϕ_n , Lattice point temperature T

```

for  $icell \in [1, ncell]$  do
    Initialize cell parameter  $\phi_n$ ;
    Initialize cell velocity, cell elasticity parameter, etc.;
end
while  $itime \leq ntime$  do
    Calculate lattice point cell free energy  $F_n$ ;
    Refresh cell parameter  $\phi_n$ ;
    Calculate lattice point enthalpy  $H$  and temperature  $T$ ;
    if  $T \geq T_{solidify}$  then
        Refresh cell velocity  $v_n$  to 0;
        Refresh lattice point temperature  $T$ ;
    else
        Re-calculate lattice point temperature  $T$ ;
    end
    Refresh lattice point cell parameter  $\phi_n$  and output new status;
end

```

Algorithm 1: Combine cell floating and solidify

图 2-2 细胞流动-固化耦合模型算法图

2.6 本章小结

本章首先对于细胞模型建立提出一些基本假设，给出细胞自由能函数与速度等参数方程。在此基础上基于细胞动力学、热力学等理论利用多相场模型模拟细胞的流动，基于焓方法模拟细胞在温度场中固化现象。对于所出现的微分方程，为求定解问题引入有限差分法进行数值模拟，利用五点差分格式求得细胞参数梯度、拉普拉斯算子等关键物理量。根据实际物理含义耦合细胞迁移模型与交联模型，使耦合模型达到面向生物 3D 打印过程完整模拟生物材料中细胞行为的研究意义。

第三章 基于流动-固化耦合模型模拟结果与规律

3.1 引言

在第二章中，已完成耦合模型的建立与各物理量表达式的推导。本章首先将验证模型可靠性，进行网格无关性验证，并与文献模拟数据进行对比，针对生物 3D 打印过程开展模拟。对于打印过程中细胞的流动、固化等具体问题给出模拟结果，通过分析各参数下模拟结果，总结细胞迁移聚集与交联成型规律，达到本研究的主要目标。

3.2 细胞系统迁移聚集与交联成型模型验证

在 2.4 中已讨论了求定解问题的解析解的数值模拟方法，并利用有限差分法对于此类问题求解。有限差分法基于对空间进行网格的划分，因此首先需要验证网格无关性，即不同网格划分形式对解析解的求解无关。

在边长为 Lx 、 Ly 的空间内进行模拟，将边长均匀划分为 Nx 、 Ny 份，即将该模拟空间划分为 $Nx \times Ny$ 个大小均等的网格。将两细胞相对运动产生形变时细胞宽度 w 作为特征进行验证。由于网格划分方式不同对于绝对宽度有影响，因此将细胞宽度 w 与两倍初始细胞直径 D 求比值进行无量纲化以进行网格无关性验证。该算例中网格划分、细胞运动方向与边界条件示意如下图 3-1 所示，细胞宽度 w 取法示意图如下图 3-2 所示，取左侧细胞在 $1/2$ 网格总数处（细胞最大宽度处）横向宽度作为特征细胞宽度 w 并无量纲化处理。

分别取 $Nx = 100, Ny = 100$ ， $Nx = 150, Ny = 150$ ， $Nx = 200, Ny = 200$ ， $Nx = 400, Ny = 400$ 四种不同网格划分形式，分别计算其从初始时刻至第 5000 个时间步长时各时刻细胞宽度 w 的变化规律，如下图 3-3 所示。

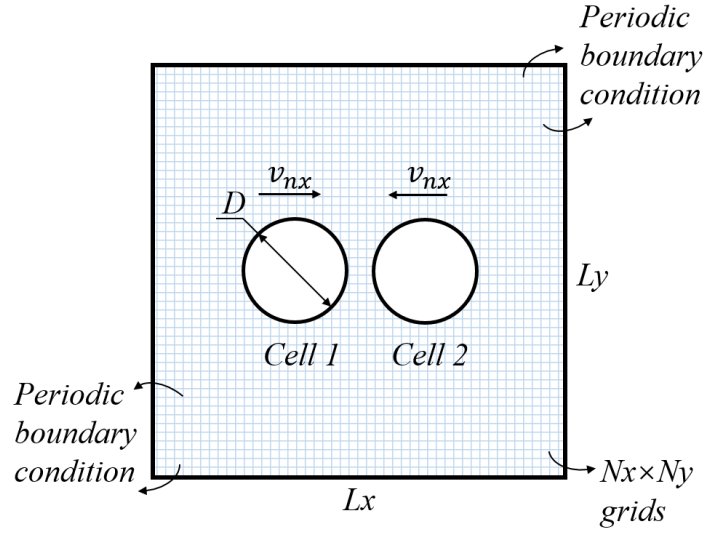
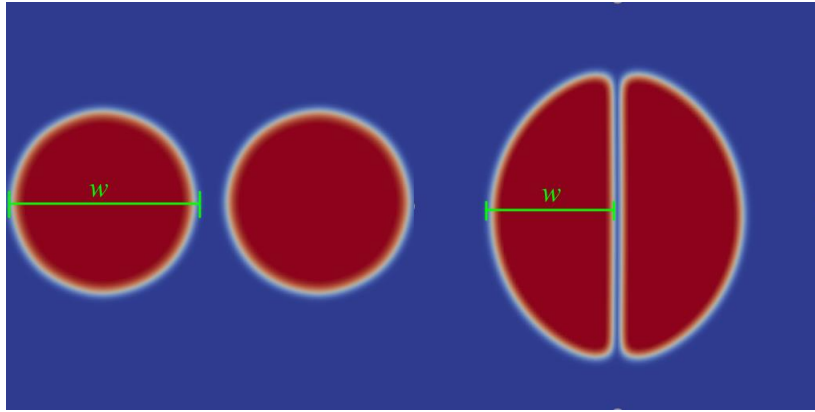


图 3-1 模型网格划分示意图

图 3-2 单个细胞宽度 w 定义示意图

如图 3-3 中，细胞宽度 w 与两倍细胞直径的比值在各网格划分形式下变化趋势大致相同；具体而言，在 1000 个时间步长至 3000 个时间步长中比值的分布在各网格划分形式中略有波动，但仍保持在可接受范围内；宽度比值在 4500 个时间步长后均逐渐收敛，在接近 5000 个时间步长时基本维持在一定值，达到细胞弹性变形的最大值，且与网格划分形式无关。

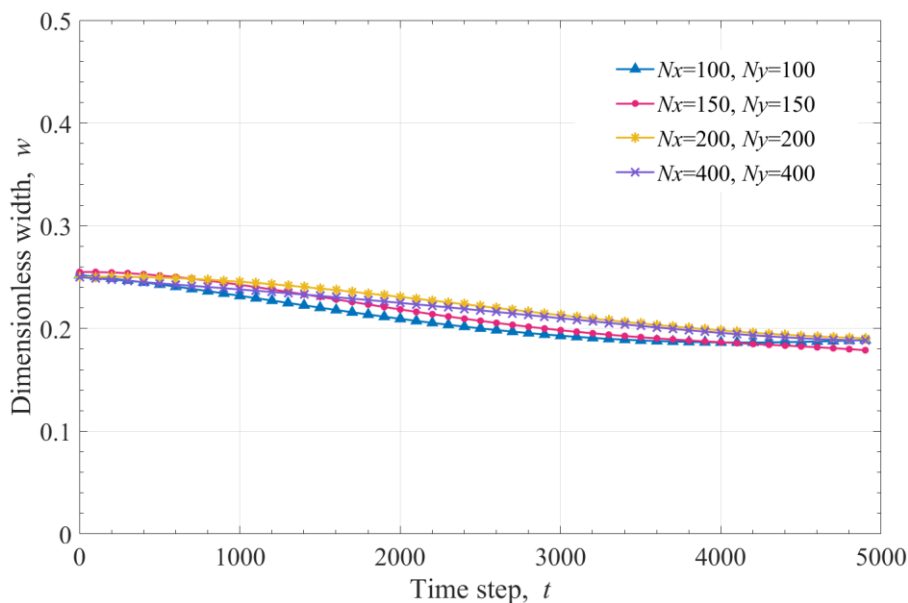


图 3-3 不同网格划分形式下细胞宽度比随时间变化规律

为进一步验证模型可靠性，利用文献中算例所给出结果进行验证^[26]。针对两细胞相对运动的情况开展模拟，网格划分方式为 $Nx = 200, Ny = 200$ ，设两细胞为物理参数均匀且相同的细胞，各细胞半径 $R = 25$ ，并取 $v_{n,A} = 0.5$ ，方向设为使两细胞达到相对运动的效果。各常数参量设定如表 3-1 所示。得到模拟结果与文献中结果对照如下图 3-4 所示。

表 3-1 细胞模型中各参数值

γ_n	λ	μ_n	κ	ξ
5.0	7.0	40	60	1500

可以看到，模拟结果与文献中给出结果符合得很好，在各时刻下均有相同的弹性形变量，形变趋势也与文献中趋势相似。图 3-4(b)图中该时刻两细胞间距与文献数据稍有不同，推测是由于文献中对于细胞平移速度初始化时进行了调整。此调整随时间步长增加而逐渐不明显，图(c)与(d)中几乎无法观测到模拟结果与文献结果的差别。

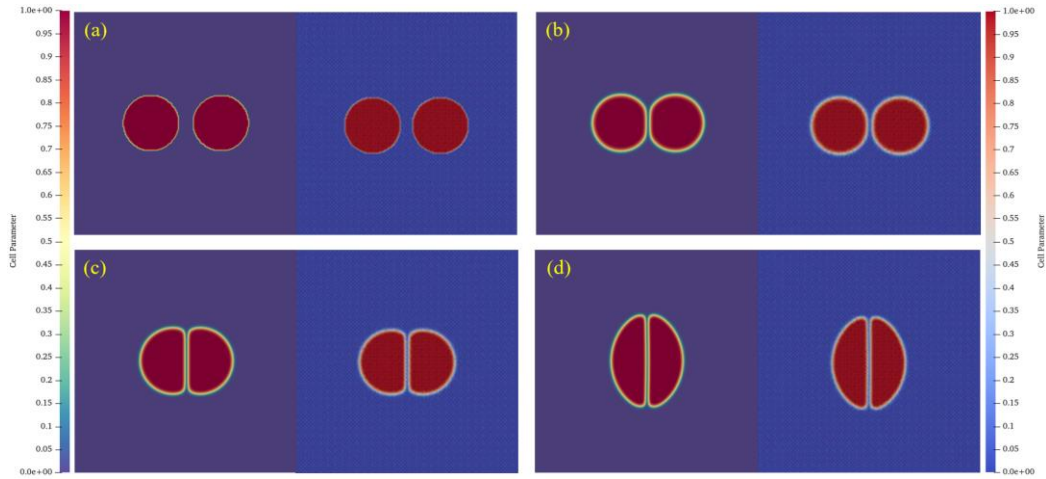


图 3-4 两相对运动细胞模拟结果（各左图）与文献模拟结果（各右图）

(a) $t = 1$; (b) $t = 700$; (c) $t = 2000$; (d) $t = 5000$.

3.3 细胞系统随时间演化模拟结果

为了解多细胞系统随时间演化的规律，并为随后研究其在流场与温度场中流动与固化奠定基础，首先需要对多细胞系统初始化至均匀分散的过程开展模拟。采用 $Nx = 200, Ny = 200$ 的网格划分方式，并设模型中所有细胞为物理参数均匀且相同的细胞，各细胞半径 $R = 12$ ，初始化时在网格中随机分布重叠度适当的细胞共 69 个。此处对细胞重叠度加以限制，主要由于在实际生物 3D 打印过程中，细胞均匀分散在基液中，从喷嘴中挤出后形态较为分散，很难有较大的重叠度。细胞其余各常数参量设定与表 3-1 中相同。得到初始化网格点上细胞分布情况与其随时间演化模拟结果如下图 3-5 所示。

如图 3-5 中(a)图，共 69 个细胞随机地分布在 $Nx = 200, Ny = 200$ 的网格上。当时间步长增加，如(b)图中 $t = 100$ 时，细胞的相互重叠导致细胞间作用力致使细胞发生弹性变形，各细胞均有不同程度的形变，但总面积维持大致不变。随后(c)至(e)图中均为细胞间的相互作用，由于细胞弹性的作用，部分在初始化时重叠度较大的细胞仍受到较大的作用力，细胞边界保持较大的变形。当 $t = 500$ 时，大部分细胞边界已恢复平滑，但部分细胞仍有挤压等相互作用。

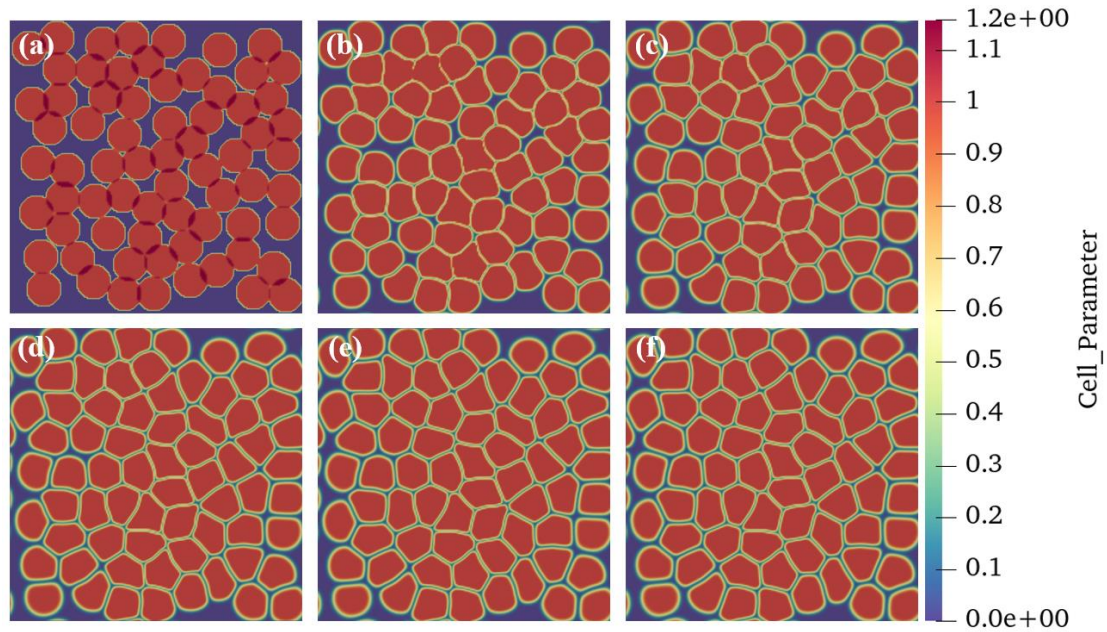


图 3-5 多细胞系统随时间演化示意图

(a) $t = 1$; (b) $t = 100$; (c) $t = 200$; (d) $t = 300$; (e) $t = 400$; (f) $t = 500$.

3.4 细胞系统迁移聚集与交联成型规律

3.4.1 不同流动速度下细胞运动规律

当细胞处于不同流速的流场中时，细胞的流动状态也将不同。模型网格划分方式为 $N_x = 200, N_y = 200$ ，设所有细胞为物理参数均匀且相同的细胞，各细胞半径 $R = 12$ ，初始化时在网格中随机分布重叠度适当的细胞共 50 个。细胞其余各常数参量设定与表 3-1 中相同。分别对处于 $v = 0.2$ 、 $v = 0.5$ 、 $v = 1.0$ 三种不同速度的流场中的细胞系统开展模拟，结果如下图 3-6 至图 3-8 所示。

如图 3-6 至图 3-8 所示，对于相同初始化条件（如各图中(a)图所示， $t = 1$ 时各细胞分布状况）的多细胞系统，由于处于速度不同的流场中，其流动规律呈现出较大差异。在时间步长 $t = 500$ 内（如各图中(b)图所示）细胞主要受细胞间相互作用影响，从有部分重叠的状态变为相互间留有间隙的状态；在时间步长 $t = 500$ 后细胞没有重叠现象，受外加流场驱动呈现出向右侧运动的趋势，但各流场速度下细胞流动情况有所不同。当流场流动速度较大时，细胞更易扩散，当 $v = 1.0$ 时出现较明显的“空洞”，即细胞簇与细胞簇中间出现间隙，细胞分布不均匀；当流场流动速度较小时，细胞倾向于紧密地聚集，当 $v = 0.2$ 时细胞簇几乎为紧密的层状排列，仅在部分区域出现空隙，细胞分布更均匀。

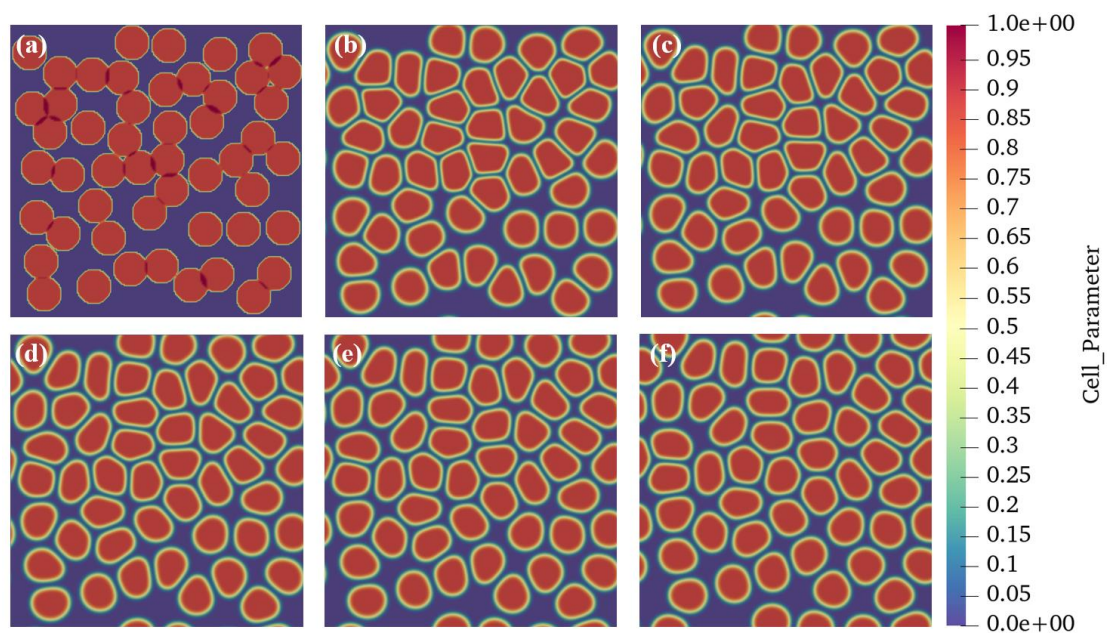


图 3-6 $v = 0.2$ 时各时间步长下细胞运动情况
(a) $t = 1$; (b) $t = 500$; (c) $t = 1000$; (d) $t = 2000$; (e) $t = 3000$; (f) $t = 5000$.

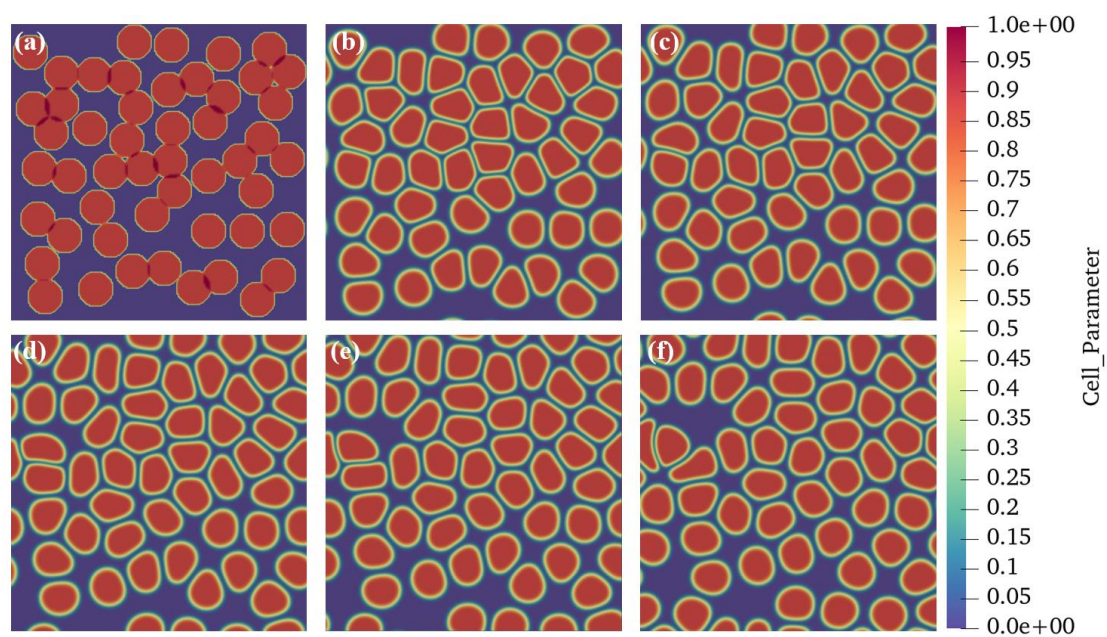


图 3-7 $v = 0.5$ 时各时间步长下细胞运动情况
(a) $t = 1$; (b) $t = 500$; (c) $t = 1000$; (d) $t = 2000$; (e) $t = 3000$; (f) $t = 5000$.

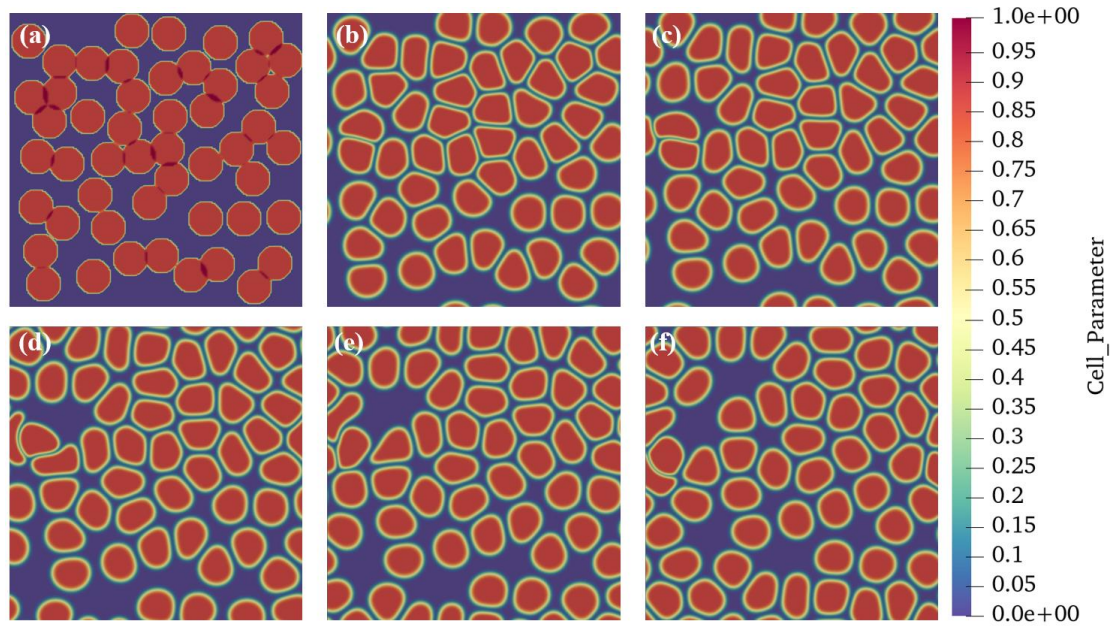


图 3-8 $v = 1.0$ 时各时间步长下细胞运动情况

(a) $t = 1$; (b) $t = 500$; (c) $t = 1000$; (d) $t = 2000$; (e) $t = 3000$; (f) $t = 5000$.

3.4.2 不同温度作用下细胞成型规律

在生物 3D 打印过程中，需要对打印后的细胞材料进行固化处理以满足对打印物的需求，实践中通常采用紫外线光固化或加热热固化法使细胞固化。本研究耦合流场与温度场，对于不同温度条件下多细胞系统流动-固化行为开展模拟。模型网格划分方式为 $Nx = 200, Ny = 200$ ，设所有细胞为物理参数均匀且相同的细胞，各细胞半径 $R = 14$ ，网格左右存在两对称刚性固壁，初始化时在网格非固壁区域内随机分布重叠度适当的细胞共 43 个，外加流场的流动速度 $v = 0.4$ 。细胞其余各常数参量设定如下表 3-2 所示。

表 3-2 细胞模型中各参数值

γ_n	λ	μ_n	κ	ξ
7.0	7.0	40	60	1500

取网格左侧温度为恒定室温 $T_0 = 25^\circ\text{C}$ ，在右侧加一温度为 T_h 的热源用于模拟外加温度场对打印过程中细胞的固化作用，温度场示意图如图 3-9 所示。在实际过程中，通常细胞固化临界温度为 $T_s = 56^\circ\text{C}$ 。因此分别取 $T_h = 70^\circ\text{C}$ 、 $T_h = 60^\circ\text{C}$ 两种不同温度热源开展模拟，观察细胞在不同温度场作用下固化速度与交联成型规律。

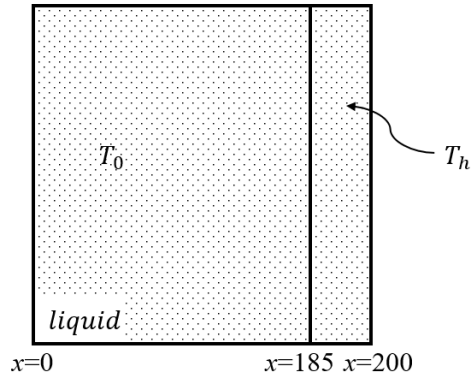
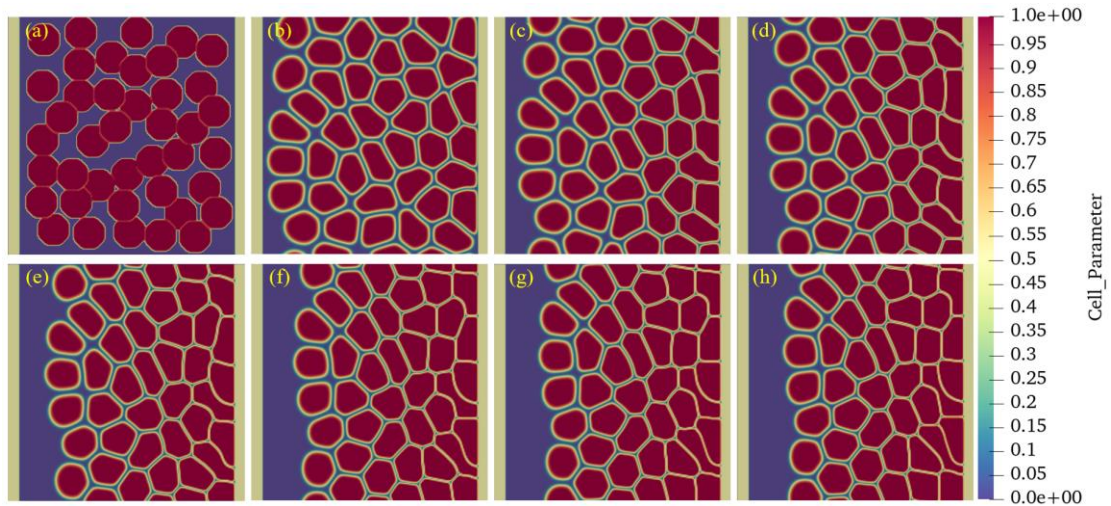


图 3-9 外加温度场示意图

如图 3-10 所示，多细胞系统在热源 $T_h = 70^\circ\text{C}$ 表现出较明显的固化现象，随时间增加右侧靠近热源的区域由于温度达到固化温度而由原有弹性形变转为塑性形变，以层状附着在右侧固壁上；左侧细胞仍处于较冷环境中，未达到固化温度的细胞仍保持原有速度运动。对不同热源温度 T_h 下细胞的固化现象进行对比，如下图 3-11 所示。


 图 3-10 $T_h = 70^\circ\text{C}$ 时模拟细胞固化过程

(a) $t = 1$; (b) $t = 2500$; (c) $t = 5000$; (d) $t = 7500$;
(e) $t = 10000$; (f) $t = 12500$; (g) $t = 14000$; (h) $t = 15000$.

如图 3-11 所示，当外加温度场温度足够高时，细胞流动至一定区域即开始固化，即上图各图中靠右侧区域。在此区域内，由于热温度细胞失活后按照层状排列交联成型。当外加温度场温度较低、不至使细胞固化时，细胞维持原有运动趋势，如图 3-10 中各左图中 $T_h = 60^\circ\text{C}$ 时，由于仅有小部分区域内温度达到细胞固化临界温度 T_s ，此部分不足以使细胞逐层交联，因此右侧靠近热源细胞虽有部分固化，但大部分仍具有流动趋势，呈现出左侧部分细胞拖拽右侧细胞流动的行

为。注意到右侧细胞的塑性形变也明显小于 $T_h = 70^\circ\text{C}$ 时细胞的形变，即此温度下细胞并未完全交联成型。

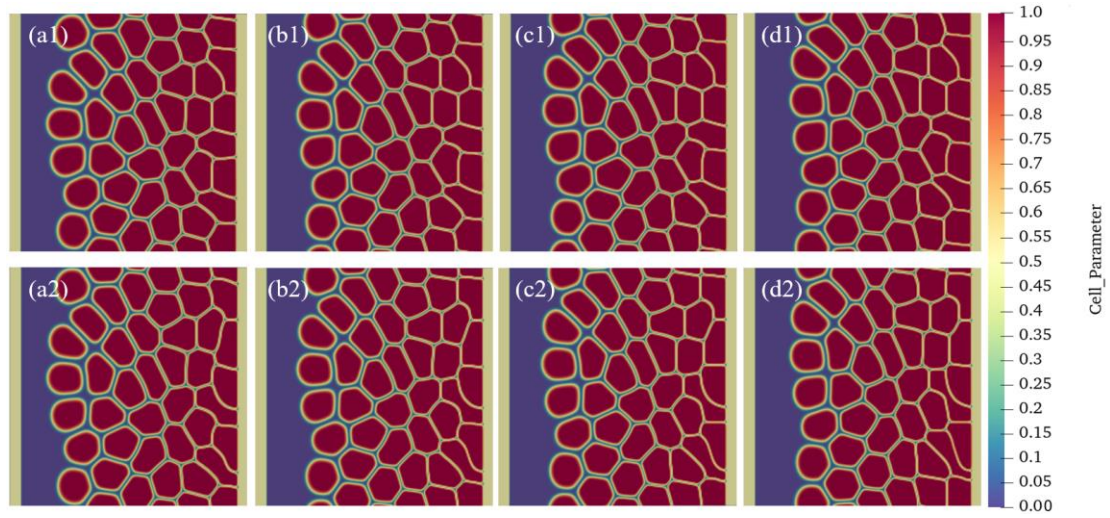


图 3-11 热源 $T_h = 60^\circ\text{C}$ （上图）与 $T_h = 70^\circ\text{C}$ （下图）细胞固化现象对比
(a) $t = 10000$; (b) $t = 12000$; (c) $t = 13000$; (d) $t = 15000$.

3.5 本章小结

本章在给定细胞流动-固化耦合模型的物理参数后，对其网格无关性与有效性进行验证，并与文献中算例进行验证对比。对于多细胞系统中细胞随时间的变化规律开展模拟，描述了细胞在运动过程中出现的弹性变形、碰撞等现象。通过对于细胞在不同流动速度下模拟、不同温度作用下固化模拟，总结出细胞迁移聚集与交联成型规律。得到当外加流场流动速度较大时，细胞簇与细胞簇中间出现间隙甚至出现较明显的空洞；反之当流场流动速度较小时，细胞倾向于紧密地层状排列聚集。当外加温度场温度足够高时，细胞流动至一定区域即开始固化，原有的弹性形变转化为塑性形变，细胞失活后按照层状排列交联成型。当外加温度场温度较低、不至使细胞固化时，细胞维持原有运动趋势。总结以上细胞迁移聚集与交联成型规律，揭示细胞流动与固化机理，完成本研究的研究目标。

第四章 细胞弹性与重叠耗能对细胞系统演化的影响

4.1 引言

第三章已对外加流场、外加温度场对细胞系统演化的作用加以分析并总结其规律，本章将着眼于细胞自身参数对其运动特点的影响。首先分析细胞常量参数对于单细胞-平板系统中稳定状态的细胞形态的影响。在此基础上，对于细胞弹性问题衍生至多细胞系统，通过不同细胞弹性的细胞处于同一系统中并随时间变化开展模拟，达到探究细胞弹性对于细胞变形作用机制的目的。

4.2 细胞弹性与细胞重叠耗能对单细胞-平板系统稳定状态的影响

4.2.1 单细胞-平板系统中细胞弹性对细胞形变的影响

根据式(2.9)建立细胞-平板系统模型，其中网格划分方式为 $N_x = 200, N_y = 200$ 。设细胞半径 $R = 50$ ，并取 $v_{n,A} = 0.8$ ，其余细胞常数参数如下表 4-1 所示。

表 4-1 单细胞-平板模型中各参数值

γ_n	λ	μ_n	κ	ξ
20.0	7.0	40	60	1500

作出细胞随时间步长增加，逐渐下落至平板并达到稳定状态图像如下图 4-1 所示。可以看到，随着运行次数增加，细胞逐步贴近平板并发生弹性形变，最终稳定在固定位置，且不发生明显的形变，如图 4-1 (d)所示，在 $t = 7500$ 后，较长一段时间内细胞形状无明显变化。以下将对于不同细胞弹性参数 γ_n 下稳定状态时细胞形态进行讨论与分析。

如下图 4-2 所示，与细胞弹性相关的系数 γ 越小，细胞的稳定形态呈现出越扁平的趋势，反之亦然。此情况对应物理意义较容易理解，当细胞越“软”，则更易发生变形，稳定状态越接近于无表面张力的形态；反之当细胞越“硬”，表面张力可以使细胞具有收紧的趋势，呈现出近水滴状趋势。

为更直观表现其变形趋势，设细胞无量纲变形宽度为细胞宽度与细胞直径的比值，如图 4-3 所示。得到三种参数下细胞的形变趋势如图 4-4 所示。

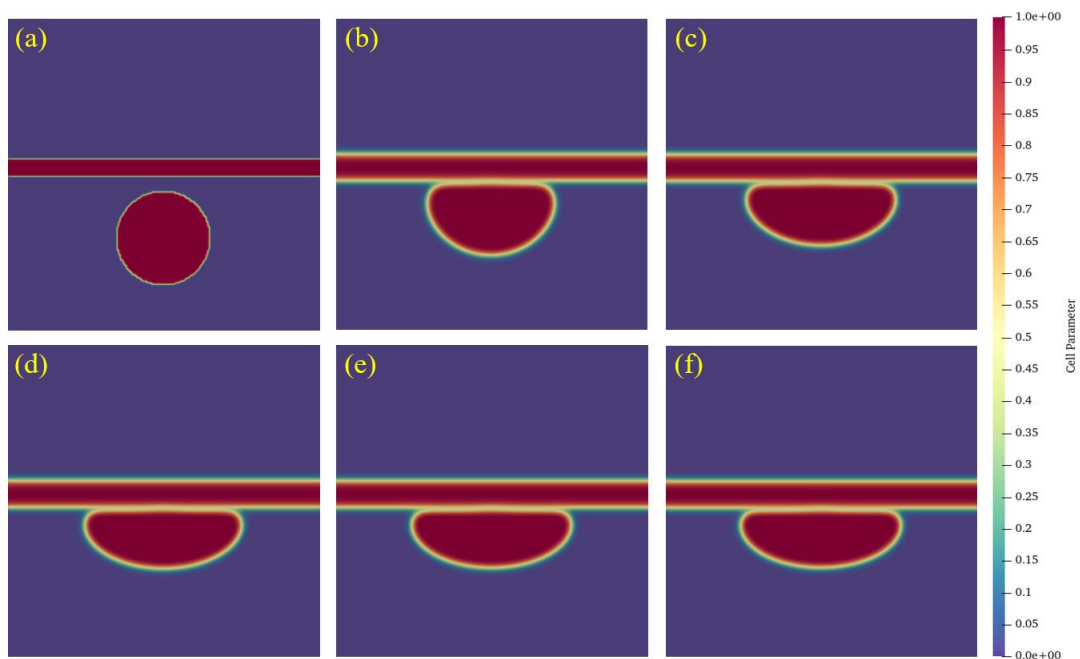


图 4-1 单细胞-平板系统中细胞随时间演化图

(a) $t = 1$; (b) $t = 2500$; (c) $t = 5000$; (d) $t = 7500$; (e) $t = 10000$; (f) $t = 15000$.

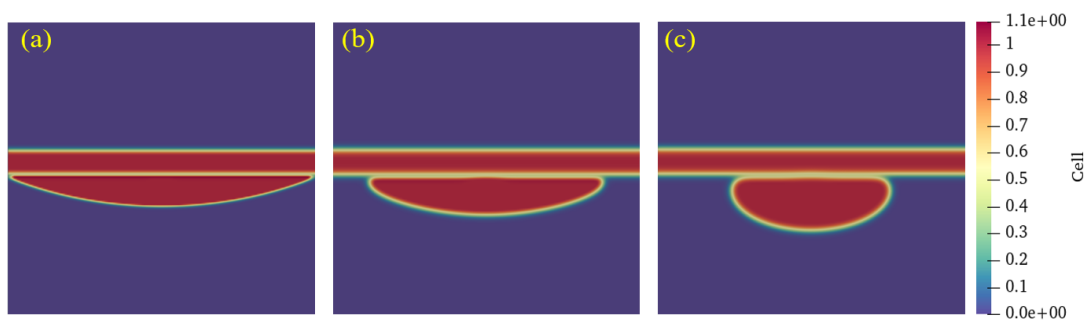


图 4-2 单细胞-平板系统中不同细胞弹性对于细胞稳定形态影响

(a) $\gamma = 1, \kappa = 60$; (b) $\gamma = 5, \kappa = 60$; (c) $\gamma = 20, \kappa = 60$ 各参数细胞稳定形态图

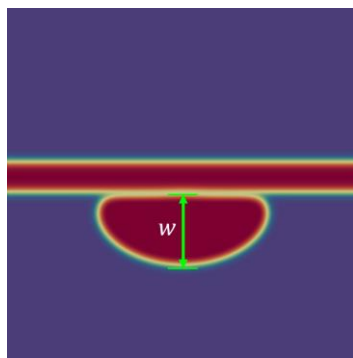


图 4-3 细胞无量纲变形宽度示意图

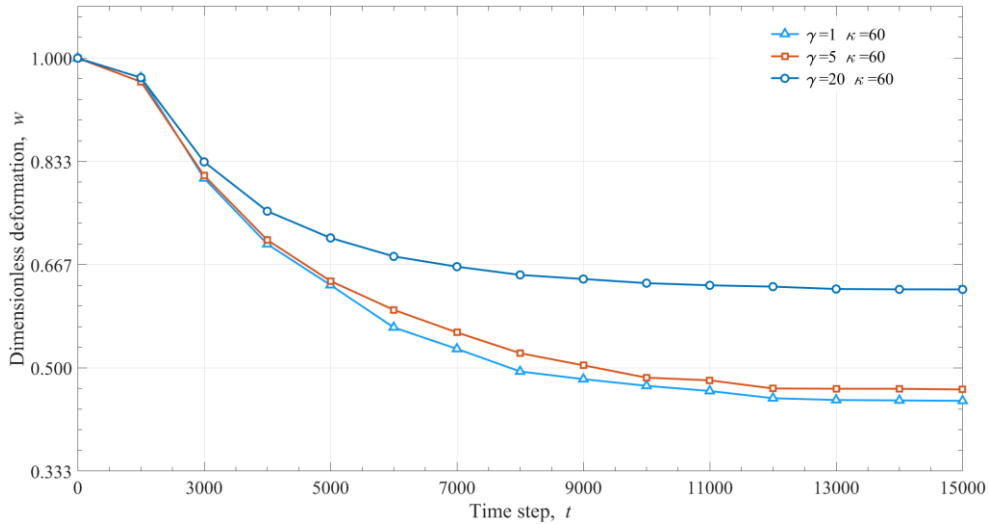


图 4-4 各参数下细胞无量纲变形宽度随时间演化趋势

图 4-4 主要表现三种参数条件下细胞无量纲宽度的变化。在三种条件下，细胞在 $t = 11000$ 个时间步长后均达到稳定状态，不再发生变形。在 $t = 0$ 至 $t = 4000$ 细胞均发生明显形变，速度较快；细胞弹性系数 $\gamma = 20$ 的细胞在稳定形态变形量较小，且达到稳定的时间也相对最短。

4.2.2 单细胞-平板系统中细胞重叠耗能对细胞形变的影响

如图 4-5 所示，当细胞弹性 γ 相同时，细胞重叠耗能 κ 越大，细胞的稳定形态的边界层越大，即细胞与平板间具有越大的间隙，这在数值模型的表达式中可以推导得出。

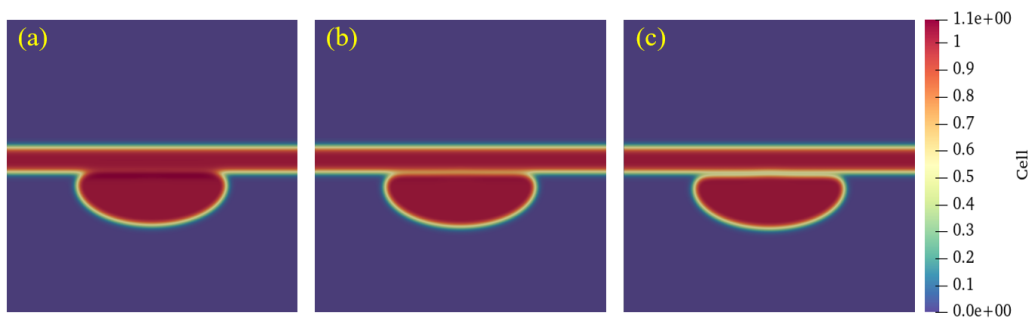


图 4-5 单细胞-平板系统中不同细胞重叠耗能对于细胞稳定形态影响

(a) $\gamma = 20, \kappa = 5$; (b) $\gamma = 20, \kappa = 15$; (c) $\gamma = 20, \kappa = 60$.

4.3 多细胞系统中细胞弹性对于细胞系统演化的影响

在 4.2 研究的基础上，进一步探究多细胞系统中细胞弹性对细胞变形的影响。

通过不同细胞弹性的细胞处于同一系统中并随时间变化开展模拟，达到探究细胞弹性对于细胞变形作用机制的目的。

以下分别对于两种情况展开模拟：

（1）一个具有较小弹性系数($\gamma = 2$)的细胞作为标记细胞，在其余正常弹性系数($\gamma = 5$)细胞系统中；

（2）一个具有较大弹性系数($\gamma = 20$)的细胞作为标记细胞，在其余正常弹性系数($\gamma = 5$)细胞系统中。

对于两种情况，利用深色标记该弹性系数不同的细胞以便观测。模型网格划分形式为 $Nx = 200, Ny = 200$ ，设细胞半径 $R = 12$ ，在网格内随机分布重叠度适当的 69 个细胞开展模拟。其余各细胞常量参数如下表 4-2 所示。

表 4-2 多细胞系统中各细胞常量参数值

λ	μ_n	κ	ξ
7.0	40	60	1500

为跟踪细胞变形并定量开展分析，选取随机五个正常弹性系数细胞，取其无量纲变形周长与标记细胞进行比较。无量纲变形周长物理含义为当前时刻细胞总边界长度与初始时刻周长的比值，由下式(4.1)给出：

$$L_i = \frac{1}{2\pi R} \int dx \int dy |\nabla \phi_i| \quad (4.1)$$

分别对（1）与（2）两种设定情况开展模拟如下。下图 4-6 描述了较小弹性系数($\gamma = 2$)的细胞在正常弹性系数细胞中的演化过程，可以看到标记细胞在初始阶段由于与周围细胞的重叠，受到较大的细胞间作用力，从而被挤压、发生较大变形。其具有较软的边界，因此具有近似与菱形的形变。随时间增加，其受其余细胞的作用仍保持较大形变，并随周围细胞移动而向网格右侧移动。

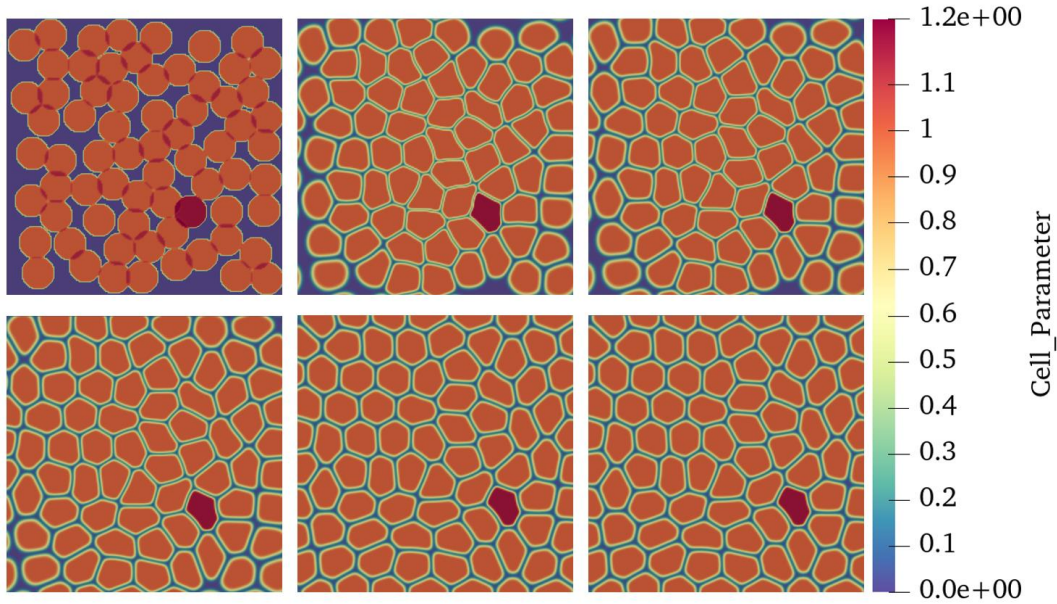


图 4-6 较小弹性系数($\gamma = 2$)的细胞在正常弹性系数细胞中演化规律

如图 4-7，标记细胞在初始段具有较大弹性变形，且具有很大的波动，猜测因边界较软而在与其余碰撞时易快速发生大量变形；而其余普通细胞的弹性变形都在与原始周长相差较小的范围内。随时间变化，各细胞无量纲形变均趋近于 1，即恢复在初始阶段的周长。这也符合细胞系统沿总能量最小方向发展的趋势。

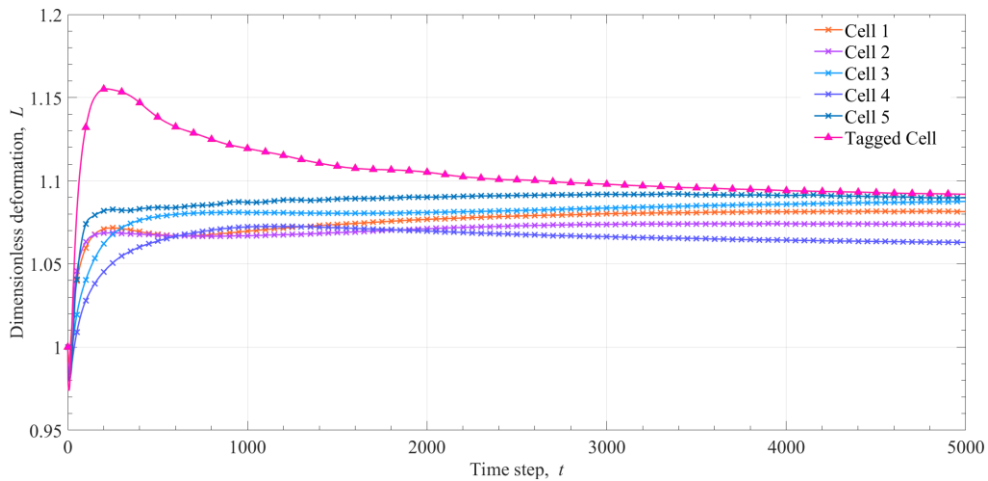


图 4-7 较小弹性系数细胞与其余细胞无量纲变形量对比

如图 4-8，标记细胞由于其较大弹性系数，与图 4-6 中较小弹性系数的细胞具有非常明显的变形差异。在初始阶段，即便受到周围细胞的作用，但其发生的形变不大，边界保持为平滑的接近椭圆的状态，反而对周围细胞造成一定作用，使其发生较大的变形。随时间步长增加，标记细胞的细胞界面收紧，呈现近似圆形的状态，并随周围细胞发生一定流动。

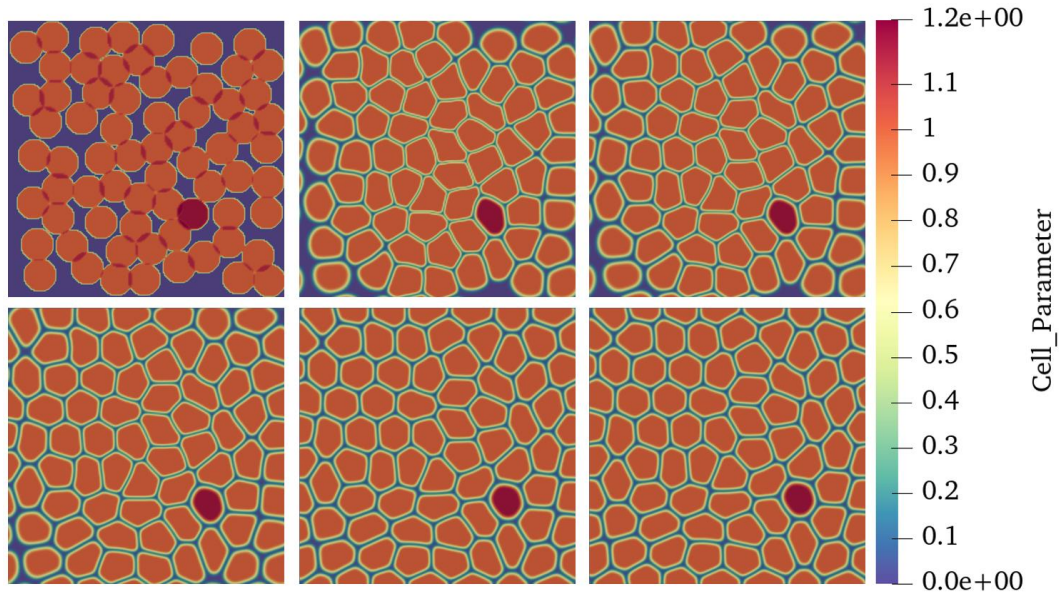


图 4-8 较大弹性系数($\gamma = 20$)的细胞在正常弹性系数细胞中演化规律

下图 4-9 中标记细胞在初始段也与图 4-7 类似，有较明显的大变形阶段。但与其不同的是，由于细胞弹性系数较大，其形变回复速度较快，在 500 个时间步长时即回复至略低于初始周长的边界周长，并维持相对恒定。

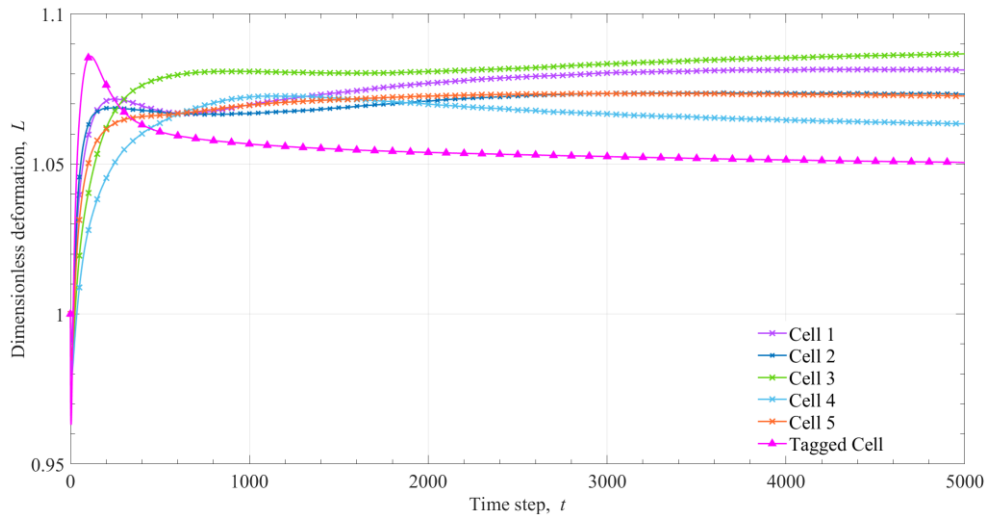


图 4-7 较大弹性系数细胞与其余细胞无量纲变形量对比

4.4 本章小结

本章重点研究细胞自身参数对其运动特点的影响。为分析细胞常量参数对于单细胞-平板系统中稳定状态的细胞形态的影响，本研究对于不同细胞弹性参数、不同细胞重叠耗能的细胞进行模拟，得出相应形态结果，并定量对其无量纲变形进行分析。对于多细胞系统，本研究通过不同细胞弹性的细胞处于同一系统中并

随时间变化开展模拟，分别取不同弹性参数的细胞在其余普通弹性参数细胞中运动开展数值模拟，对标记细胞的变形量与普通细胞的变形量进行分析，得到细胞弹性在细胞运动中对细胞形态影响的特点。

第五章 总结与展望

本研究面向生物 3D 打印过程中细胞材料的迁移聚集与交联成型现象展开，通过建立模型对单细胞-平板系统、两细胞系统、多细胞系统、多细胞流动-固化过程等开展模拟。本研究主要工作内容与其结论如下：

基于相场法与细胞场动力学建立细胞系统基本模型；根据细胞动力学、形态学推导自由能函数与细胞速度公式，建立细胞流动模型；根据热力学原理与焓方法，建立细胞固化模型；对于微分方程的定解问题，利用有限差分法的五点差分格式求解。建立描述细胞在流场中流动与在温度场中固化的耦合模型，利用两细胞系统进行网格无关性验证，并与文献结果进行对比验证，从而检验所采用的数值模拟模型的有效性。分别计算各格点上细胞参数与格点温度，可完整模拟流场-细胞场、温度场-细胞场间的相互作用，达到预期研究目标。

利用细胞流动-固化耦合模型开展模拟，得到多细胞系统随时间演化模拟结果，掌握生物 3D 打印基本过程中多细胞系统的演化规律。分别在外加流场不同流动速度下与温度场的不同温度作用下开展模拟，得到当外加流场流动速度较大时，细胞簇与细胞簇中间出现间隙甚至出现较明显的空洞；反之细胞则倾向于紧密地层状排列聚集。当温度足够高时，细胞流动至一定区域即开始固化，细胞失活后按照层状排列交联成型。总结以上细胞迁移聚集与交联成型规律，完成本研究的研究目标。

利用细胞流动模型进一步开展研究。在单细胞-平板系统中改变细胞弹性与细胞重叠耗能，得到与细胞弹性相关系数 γ 越小，细胞的稳定形态呈现出越扁平的趋势，反之细胞表面张力可以使细胞呈现出近圆形的水滴状。细胞重叠耗能系数 κ 越大，细胞的稳定形态的边界层越大，即细胞与平板间具有越大的间隙。在多细胞系统中，利用标记细胞探究软细胞与硬细胞在常规细胞系统中的变形规律，掌握多细胞系统中细胞变形特点。

本研究所建立的多细胞流动-固化耦合模型可以较好地对生物 3D 打印过程中生物材料的打印成型过程在细胞尺度进行模拟，为推进生物 3D 打印技术发展，尚需要将模拟尺度拓展至宏观尺度，以便掌握整体打印进程。

参考文献

- [1] 毛宏理, 顾忠伟. 生物 3D 打印高分子材料发展现状与趋势[J]. 中国材料进展, 2018, 37(12): 13-33+57.
- [2] MURPHY S V, ATALA A. 3D bioprinting of tissues and organs[J]. Nature Biotechnology, 2014, 32(8): 773–785.
- [3] 张宏宝, 胡大超. 生物 3D 打印的最新研究及应用[J]. 粉末冶金工业, 2015, 25(4): 63–67.
- [4] 卢秉恒, 李涤尘. 增材制造 (3D 打印) 技术发展[J]. 机械制造与自动化, 2013, 42(4): 1–4.
- [5] MIRONOV V, KASYANOV V, DRAKE C, et al. Organ printing: promises and challenges[J]. Future Medicine, 2008.
- [6] MARGA F, JAKAB K, KHATIWALA C, et al. Organ Printing: A Novel Tissue Engineering Paradigm[M]. 2011: 27–30.
- [7] HU F, ZHANG X, LIU H, et al. Neuronally differentiated adipose-derived stem cells and aligned PHBV nanofiber nerve scaffolds promote sciatic nerve regeneration[J]. Biochemical and biophysical research communications, Elsevier, 2017, 489(2): 171–178.
- [8] JOHNSON B N, LANCASTER K Z, ZHEN G, et al. 3D printed anatomical nerve regeneration pathways[J]. Advanced functional materials, Wiley Online Library, 2015, 25(39): 6205–6217.
- [9] CHOI Y-J, JUN Y-J, KIM D Y, et al. A 3D cell printed muscle construct with tissue-derived bioink for the treatment of volumetric muscle loss[J]. Biomaterials, Elsevier, 2019, 206: 160–169.
- [10] SHI X, ZHOU J, ZHAO Y, et al. Gradient-Regulated hydrogel for interface tissue engineering: steering simultaneous Osteo/Chondrogenesis of stem cells on a chip[J]. Advanced healthcare materials, Wiley Online Library, 2013, 2(6): 846–853.
- [11] DERBY B. Bioprinting: inkjet printing proteins and hybrid cell-containing materials and structures[J]. Journal of Materials Chemistry, Royal Society of Chemistry, 2008, 18(47): 5717–5721.
- [12] TASOGLU S, DEMIRCI U. Bioprinting for stem cell research[J]. Trends in biotechnology,

- Elsevier, 2013, 31(1): 10–19.
- [13] 黄达, 李金晟, 吕昊. 生物 3D 打印干细胞的研究进展[J]. 中国临床解剖学杂志, 2019, 37(05):127-131.
- [14] NAGAI T, HONDA H. A dynamic cell model for the formation of epithelial tissues[J]. Philosophical Magazine B, Taylor & Francis, 2001, 81(7): 699–719.
- [15] HONDA H, TANEMURA M, NAGAI T. A three-dimensional vertex dynamics cell model of space-filling polyhedra simulating cell behavior in a cell aggregate[J]. Journal of theoretical biology, 2004, 226(4): 439–453.
- [16] HONDA H. Description of cellular patterns by Dirichlet domains: the two-dimensional case[J]. Journal of theoretical biology, 1978, 72(3): 523–543.
- [17] HONDA H, TANEMURA M, NAGAI T. A three-dimensional vertex dynamics cell model of space-filling polyhedra simulating cell behavior in a cell aggregate[J]. Journal of Theoretical Biology, 2004, 226(4): 439–453.
- [18] 孙亮. 基于 Potts 模型的恶性肿瘤生长的二维随机模拟[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2003, 37(4):491-495.
- [19] GRANER F, GLAZIER J A. Simulation of biological cell sorting using a two-dimensional extended Potts model[J]. Physical Review Letters, 1992, 69(13):2013-2016.
- [20] KÄFER J, HOGEWEG P, MARÉE A F. Moving forward moving backward: directional sorting of chemotactic cells due to size and adhesion differences[J]. PLoS Comput Biol, Public Library of Science Computational Biology, 2006, 2(6):e56-0529.
- [21] HONDA H, YAMANAKA H, DAN-SOHKAWA M. A computer simulation of geometrical configurations during cell division[J]. Journal of theoretical biology, Elsevier, 1984, 106(3): 423–435.
- [22] GUISONIN, MAZZITELLO K I, DIAMBRA L. Modeling active cell movement with the potts model[J]. Frontiers in Physics, 2018, 6: 61-.
- [23] WILLIS G, PRUESSNER G, KEELAN J. Minimalistic real-space renormalization of Ising and Potts Models in two dimensions[J]. Frontiers in Physics, 2015, 3: 46-.
- [24] SHAO D, RAPPEL W-J, LEVINE H. Computational Model for Cell Morphodynamics[J].

- Physical Review Letters, 2010, 105(10):108104.
- [25] PALMIERI B, BRESLER Y, WIRTZ D, et al. Multiple scale model for cell migration in monolayers: Elastic mismatch between cells enhances motility[J]. Scientific Reports, 2015, 5(1): 11745.
- [26] BINER S B. Programming Phase-Field Modeling[M]. 2017.:81-97.
- [27] SHAO D, LEVINE H, RAPPEL W-J. Coupling actin flow, adhesion, and morphology in a computational cell motility model[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012, 109(18): 6851–6856.
- [28] LOWENGRUB J S, RÄTZ A, VOIGT A. Phase-field modeling of the dynamics of multicomponent vesicles: Spinodal decomposition, coarsening, budding, and fission[J]. Physical Review E, 2009, 79(3): 031926.
- [29] NONOMURA M, XU Y. Study on Multicellular Systems Using a Phase Field Model[J]. PLoS ONE, 2012, 7(4): e33501.
- [30] ZHOU B, HEIDER Y, MA S, et al. Phase-field-based modelling of the gelation process of biopolymer droplets in 3D bioprinting[J]. Computational Mechanics, 2019, 63(6): 1187–1202.
- [31] LAPIDUS I. Periodic boundary conditions and the one-dimensional hydrogen atom[J]. American Journal of Physics, 1984, 52(12):1151-1152.
- [32] KUMAR A, RAJEEV. A Stefan problem with moving phase change material, variable thermal conductivity and periodic boundary condition[J]. Applied Mathematics and Computation, 2020, 386: 125490.
- [33] ALERT R, TREPAT X. Physical Models of Collective Cell Migration[J]. Annual Review of Condensed Matter Physics, 2020, 11(1): 77–101.
- [34] P. C. H, B. I. H. Theory of dynamic critical phenomena[J]. American Physical Society, 1977, 49(3): 435–479.
- [35] SHYY W, RAO M M, UDAYKUMAR H S. Scaling procedure and finite volume computations of phase-change problems with convection[J]. Engineering Analysis with Boundary Elements, 1995, 16(2): 123–147.
- [36] SHYY W, RAO M. Enthalpy based formulation for phase change problems with application to

g-Jitter[J]. Microgravity - Science and Technology, 1993, 7(1):41-49.

- [37]王芳, 李俊林, 杨斌鑫. 黏弹性流体充模过程中凝固现象的数值模拟[J]. 物理学报, 2014, 63(8): 084601–084610.

致 谢

惊风飘白日，光景西驰流。四年本科时光在转瞬间度过，好些事情还未来得及发生便已结束。临近毕业之际，内心满怀对于母校东南大学的不舍，亦饱含对于四年来帮助过本人的老师、同学的感恩之情。

首先感谢孙东科教授。孙老师作为我的班主任、程序设计与算法授课老师、毕业设计指导教师，他不仅传授知识、指导方法，更在本人成长路上指点迷津，可谓亦师亦友。感谢老师四年来的帮助、鼓励与肯定。我今后定当时刻谨记教诲并勉励自己，不负恩师教导与期待。

感谢 230 实验室的陈道梁、王学舟、毛士麟等学长与李岚璟学姐。感谢大家在本人完成毕业设计研究阶段提供的各种帮助。230 实验室友善和睦的人际关系与自由浓厚的学术氛围让我感到温馨并备受激励。

感谢曹宇婷、吴津仪、林晓静同学，与三位美丽与智慧的结晶成为舍友的时光将是我终生难忘的记忆。希望今后可爱的女孩各自有快乐自由生活，在广阔世界间遨游探索，常有惊喜幸福发生。同时感谢刘依琳、潘毅峰、秦楚晋等优秀勤勉同学对我的激励。志合者，不以山海为远；同心者，不以日月为限。希望日后常有相聚时刻，祝彼此友谊常青。

感谢父母对本人学习阶段所有鼓励与支持。仍记得在家中时父亲夜里床前陪伴我修改报告的时光，又或者母亲在我受挫与沮丧时打来的鼓励电话。一路上总是父母对我付出最多，如今毕业在即，今后该我来努力做些让父母感到宽慰的事了。

最后，感谢所有出现在本人生命中的人。是你们的出现与经过，塑造了今天这样的我。