

论文题目	多尺度冲击模型的建立及机体冲击损伤修复的机理研究			
开题次数	<input checked="" type="checkbox"/> 第一次 <input type="checkbox"/> 第二次			
论文类型 (请在有关项目 下作√记号)	基础研究	应用研究	工程技术	跨学科研究
				√

一、学位论文研究依据

学位论文的选题依据和研究意义，国内外研究现状和发展态势，主要参考文献，以及已有的工作积累和研究成果。

选题依据和研究意义

在战争时期，爆炸产生的冲击波导致损伤已成为一种常见战伤，这类冲击波作用下机体所发生的损伤被称为原发性冲击损伤（Primary blast injury），它会对人体造成严重的健康损害甚至直接导致死亡。在伊拉克战争结束后，许多美国士兵会频繁性的出现耳鸣，头疼等症状，因此美国对此问题也进行过研究，据研究表明，这些症状的出现是由于战争期间的爆炸冲击波对人体造成的潜在性伤害，这些伤害在短期内无法被检测到，存在一定的潜伏期。对于我国来说，虽然我国外部环境相对和平，但是恐怖爆炸袭击的潜在威胁，煤矿、化工仓库等的日常生产活动同样会发生爆炸。2015年8月12日，天津滨海新区天津港的瑞海公司危险品仓库发生火灾爆炸事故，造成165人遇难，直接经济损失68.66亿元^[1]。这类爆炸事故的发生，不仅对人民群众的人身安全和国民经济造成重大损失，同时也对特种医疗应对冲击损伤的救治提出了更高的要求^[2]。因此，关于爆炸和冲击对人体的损伤机理，以及冲击与损伤之间量效评价关系的相关研究就显得尤为关键和迫切。近年以来，在冲击波的损伤机制及其救治防护方面，不少国际上的医学工作者和力学研究机构基于生物体建立了多种的模型，广泛开展了冲击损伤机理研究，探索冲击载荷与机体损伤及修复之间的量效关系，并结合有限元模型法进行模拟分析冲击的物理机制和防护的有效性。

(1) 冲击能够导致机体多种组织损伤

冲击波类似于声波，是一种高速高压波，通常伴随着爆炸产生^[3]。冲击波具有撕裂、剥离和内爆的特性^[4]，它带来的超压和加速度直接作用于人体，对人体的组织器官（特别是空腔器官）造成闭合性损伤^[2]。与弹片伤、烧伤或其他机械损伤不同，这种闭合性损伤是内在损伤，即使伤员体表完好无损但是外轻内重，伤情表现复杂且发展迅速，并具有长效性和终身性。在临床上，由于对爆炸受伤的治疗主要集中在处理爆炸子弹、弹片等所致贯穿伤的防护和救治，往往会忽视爆炸后的冲击波作用于人体造成的神经系统和免疫系统的持续性损伤。大部分损伤可能由于前期机能影响不显著而出现更为严重的后遗症或引起并发症。例如，由于对冲击波损伤的机理了解不够，以及后期对冲击损伤治疗不够成熟可靠，导致美伊战后高达17%的创伤后应激障碍症，虽然及时治疗但仍高达3.4% - 25%的综合死亡率等后果^[5]。因此，开展冲击波损伤机理及免疫修复的研究工作亟待加强。

各种生物组织的抗损伤能力既与组织的应力有关,也与各种应力波在生物组织中的传播特性有关。反过来,冲击波在不同组织中的衰减也有明显的差异,这种组织的不连续性使得冲击波在体内传播时存在许多界面,从而造成组织细胞爆炸冲击损伤伤情的复杂多样性。

爆炸冲击过程对生物体造成的损伤主要可以分为三类:原发性冲击损伤、二次冲击损伤和多次冲击损伤^[6]。其中原发性冲击损伤主要是在冲击波作用下机体所发生的各种损伤;二次冲击损伤是指爆炸过程中产生的残骸、碎片对人体造成的损伤;三次冲击损伤是指由于爆炸对人体造成的其他损伤,如摔伤、建筑物倒塌砸伤等。除此之外,还有一些特殊的损伤,例如毒气伤、烧伤、辐射伤等。通常情况下,爆炸受伤患者往往呈现多重类型的损伤。本研究主要关注于原发性冲击损伤,即爆炸冲击波对机体造成的损伤。

原发性冲击损伤主要是由于冲击波导致的压力瞬间急剧变化引起的(图1)。

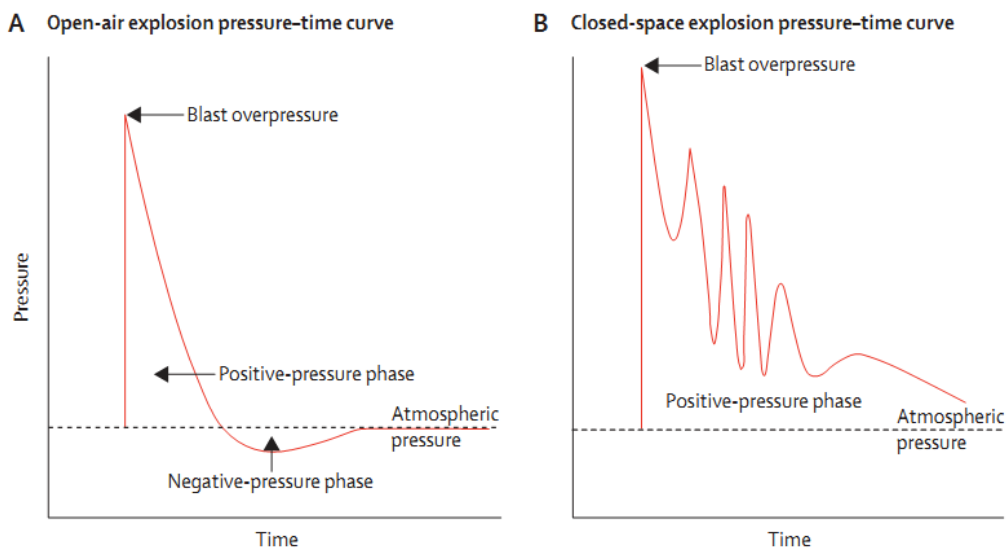


图 1.开放环境(A)和闭合环境(B)下冲击波的压力-时间曲线

Schardin 将冲击对人体造成损伤的作用方式归结为三个方面:撕裂、剥离和内爆^[7]。

- 撕裂效应也叫做剪切效应,它的病理生理学效应与非爆炸性损伤中的减速力类似,例如来自运动车辆碰撞^[8]。峰值超压导致不同密度的组织器官会以不同的速度移动,因此当超压峰值通过器官后,器官中不同密度的组织不会受到这些剪切力的束缚和损坏。
- 剥离效应主要发生在压力波由高密度介质传递至低密度介质时发生,它会将高密度介质撕成碎片并加速进入低密度介质。例如,水下爆炸会将高密度的水炸裂至低密度的空气中,导致水花飞溅。人体遭受冲击波之后,剥离效应通常会导致骨骼肌从骨骼组织被剥离^[9]。
- 内爆效应是指组织器官内的气体被爆炸压力压缩,当超压阶段通过后,气体再度膨胀并释放大量的动能。例如,肺部在受到冲击波超压时会被压缩,当肺泡中的压缩气体再次膨胀时,迫使空气栓穿过被破坏的内皮细胞进入毛细血管,形成血管栓塞

[10]。

(2) 免疫系统在机体损伤修复过程中发挥不可替代的作用

免疫系统不仅介导机体免疫防御和炎症反应，同时参与了机体的损伤修复过程^[11]。在损伤发生后，伴随着血小板的凝集和血块的形成，免疫系统就开始启动了早期炎症反应^[12]。这一过程包括补体系统的激活、转移生长因子（TGF- β ）等细胞因子的释放，以及中性粒细胞的募集，以保证受伤部位免受感染^[13]。随后，受损部位进入晚期炎症反应期，在这一过程中，血液中的单核细胞分化为巨噬细胞，并在趋化因子的引导下进入受损部位，代替中性粒细胞发挥吞噬功能。最后一类被募集进入受损部位的细胞是各种类型的淋巴细胞^[14]。在建立免疫应答反应之后，伤口开始进入纤维增生和伤口重建期，这一时期中经历的一系列过程，如成纤维细胞的募集、胶原的合成、血管和肉芽组织的生成和上皮的形成过程，都可以看到免疫细胞的身影^[15,16]。因此，伤口的修复过程也伴随着免疫系统的应答过程，机体免疫系统通过调节不同类型的免疫细胞释放一系列细胞因子、淋巴因子和生长因子，来帮助机体的损伤修复^[17]。其中，巨噬细胞在机体的整个损伤修复过程中发挥了重要的作用^[18]（图2）。

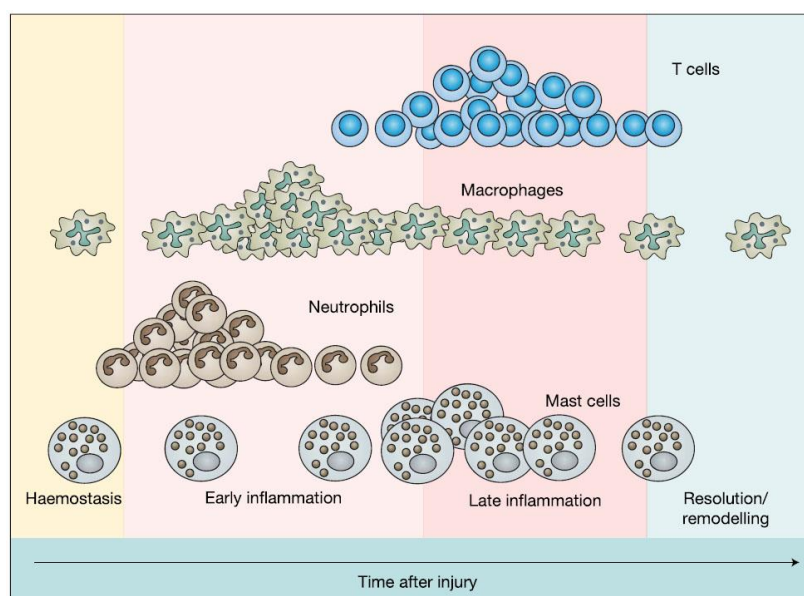


图2.各类免疫细胞参与不同阶段的损伤修复过程^[19]

在冲击损伤的修复过程中，同样可以看到免疫系统的身影^[20]。例如，在爆炸导致颅脑损伤（TBI）和神经损伤后，单核细胞和淋巴细胞迁移穿过上皮细胞层参与脑脊液和脑室系统的免疫应答反应，补体受体3（CR3）、主要组织相容性复合体（MHC）抗原等免疫分子的表达量也有所增加^[21]。在视觉系统受到冲击损伤之后，与先天性免疫和获得性免疫相关的基因网络通路被活化，淋巴细胞侵入内视网膜，参与炎症反应^[20]。但是，机体应对冲击损伤的免疫应答往往会过度，例如引发全身性的炎症反应或使患者长期处于炎症状态，最终引发机体多器官衰竭，导致患者死亡^[22]。

因此，本项目的另一个研究目标为揭示机体免疫系统对冲击损伤的响应过程，进而明确免疫系统在冲击损伤修复过程中发挥的主要功能。相关工作的开展，将有助于

了解机体免疫系统在冲击这一特殊环境下的变化规律，为冲击的免疫生物力学研究奠定基础，同时也为特种医学应对冲击损伤的治疗和康复干预工作提供理论依据。

(3) 巨噬细胞是机体损伤修复过程的主力军

巨噬细胞是机体免疫系统最重要的免疫细胞之一，是机体先天性免疫和适应性免疫连接的桥梁^[23]。巨噬细胞具有高度可塑性，在响应各种环境因素（如微生物产物，受损细胞，活化的淋巴细胞）或在不同的病理生理条件下，巨噬细胞可通过活化为不同的极化表型获得不同的功能，进而维持机体的免疫自稳。在机体损伤发生后，巨噬细胞可以先于纤维原细胞迁移至受损部位，并成为主要的细胞类群。随后，巨噬细胞吞噬受损细胞碎片、释放胶原酶来清理损伤部位，并且释放 NO 和过氧化物、介导炎症反应来保证受损部位的免于感染^[24]。巨噬细胞的还可以释放细胞因子和生长因子，如：肿瘤坏死因子（TNF- α ）、白细胞介素（IL-1、IL-6）、转移生长因子（TGF- α 、TGF- β ）来参与损伤修复过程^[25]。除此之外，巨噬细胞通过极化作用，极化为 M2 型巨噬细胞，参与损伤部位的血管生成，并抑制炎症反应的强度和范围^[26]。由此可见，巨噬细胞全程参与了机体损伤修复的整个过程（图 2），并通过自身功能的变化来调节局部组织和器官的免疫自稳。

巨噬细胞同样参与了机体冲击损伤的修复过程。颅脑损伤发生后，大脑内的小胶质细胞/巨噬细胞广泛活化，吞噬和杀伤受损细胞，通过分泌 TNF- α 、IL-1 β 等促炎因子建立炎症反应，抵御进一步的感染。这表明内吞作用和免疫应答反应在加强^[27]。肺部和眼球在受到冲击损伤之后，同样发现了巨噬细胞的浸润、活化过程，并检测到巨噬细胞合成和分泌诱导性一氧化氮酶（iNOS）和一氧化氮（NO），参与炎症反应，并在炎症部位激活应急氧化反应和硝化反应^[28,29]。

目前，临床对冲击损伤患者长期处于炎症反应的状态关注越来越多，强烈的免疫应答反应和过量的免疫因子损害了自身的正常细胞且阻碍了机体的修复过程。因此，如何调动巨噬细胞充分参与机体损伤的修复过程，同时限制炎症反应的强度和范围就显得尤为重要。基于此，本项目的研究目标为明确冲击损伤及免疫修复过程中巨噬细胞的免疫应答机制，寻找巨噬细胞参与冲击损伤免疫修复的主要信号通路和关键作用靶点，为特种医学对冲击损伤的救治及后续康复干预过程提供理论依据。

从研究角度，冲击波具有撕裂、内爆和剥离的特性，对生理影响广泛。在冲击损伤的研究中，医学工作者和科研人员更为关注的是耳、肺、胃肠道、大血管等空腔组织器官，随着对冲击损伤机理的深入研究，脑、心脾脏及免疫系统等继发性冲击损伤的机理研究及损伤后的机体修复机制成为了基础和应用研究的重要领域。而对冲击损伤的研究对象包括离体细胞组织、动物活体、新鲜人尸体及假人，从各个层面较好的模拟了真实人体冲击损伤机制。

从临床角度，冲击波对组织器官的物理损伤，往往是多器官组织的共同受损，并且其损伤表现在广泛的细胞功能损伤。在生物体没有发生显著的组织病理损伤的情况下，通过研究冲击载荷对免疫、神经等对外界刺激敏感的细胞的作用机制和损伤影

响，对包括NO、IL-1 在内的细胞因子以及血清酶等对比标准值进行检测，可以在损伤情况严重前即时发现组织器官的创伤改变情况。在临床处理上，医学工作者对这些细胞因子或血清酶等血检项目进行合理选取及评估，可以在冲击引起的继发性损伤造成多器官功能严重损伤前，及时采取有效的治疗措施，以遏制多组织器官功能的衰竭的扩散。

基于此，在力学研究上，本课题拟分别构建适用于细胞和活体动物的多尺度冲击模型，建立稳定、精确有效的实验平台及方法；在生物学和医学研究上，以免疫系统为研究主体，以小胶质/巨噬细胞为研究对象，拟从动物、细胞、分子等不同层次研究冲击载荷与其结构、功能等变化之间的量效关系，探究其在冲击载荷作用下诱导激活的机体免疫修复的信号通路和免疫反应机理，明确冲击力学加载与机体免疫损伤的量效关系。相关研究不仅可以为特殊环境条件下机体的免疫系统变化提供相关数据。同时，还为特种医疗应对爆炸冲击损伤的救治和康复提供理论指导。

国内外研究现状和发展势态

(1) 冲击损伤模拟实验平台方法

美国于上个世界 50 年代开始建立激波管对冲击损伤进行研究，Jaffin 在 1987 年成功建立了适用于小型动物的模拟单次爆炸冲击损伤研究的激波管^[30-32]。同时期国内的研究人员也正式开始了冲击损伤的研究^[33]，第三军医大于 1988 年建立了国内第一台模拟爆炸冲击的激波管 BST-I 型，并接下来数十年来建立了可适用于不同大小动物的 BST-II、BST-III 型，其模拟范围为 200-613 KPa、15-32 ms。激波管能直接模拟单次爆炸冲击波的损伤，并通过测定动物平面的压力值来确定动物所受载荷大小^[34-37]。

此外，基于霍普金森杆的冲击模拟由于其精确性、幅值脉宽等的易操控性，一直也是研究人员开发的热点。Scott 等人建立了落锤式霍普金森杆的液压冲击损伤装置，适用于动物脑部的冲击损伤研究，该装置也根据适用的动物类型持续做了微调。但测定的压力值属于间接测定并非从研究对象上取得，这一点导致真实值存在一定偏差^[38]，且无法明确细胞、动物所受冲击载荷的具体过程，冲击环境较复杂。

在生物力学领域，冲击损伤是一种特色损伤类型，它是一系列复杂的物理损伤效应的叠加表现，冲击损伤的机理研究需要从动物到组织再到细胞层面，多尺度模型是研究冲击损伤机制的必备条件，体外模型可以在极少干扰因素下进行机制机理研究，能够稳定、准确有效的对冲击物理环境进行模拟是整个体外模型的基石，故而开发建立细胞适用的冲击平台及方法是至关重要的。

(2) 组织器官损伤研究及量效关系

遭受冲击的伤员遗传背景不同、所处周围环境的不同、冲击波来源方向的不同可以对人体产生不同程度的损伤^[39-41]，这种损伤对人体的不同组织器官具有不同的情况。爆炸冲击对人体的损伤最直接的部位是鼓膜，研究表明，当冲击波超压达到 34 kPa 时，其对鼓膜的损伤率达到 96%^[42,43]。肺部也是冲击损伤的主要发生器官，主要表现为肺

出血，水肿和肺泡的破裂^[44,45]。其中，肺出血的发病率高达 79.1%^[46]。冲击波还可以对大脑造成损伤，一些受到冲击损伤的人群会发生意识模糊、头晕眼花和健忘的症状^[47]。研究人员基于激波管模拟冲击实验发现，冲击波对人体大脑的损伤与肺部相比更加严重，导致硬脑膜下血肿和蛛网膜下腔出血^[48,49]，以及脑干和海马体中大量 NO 的释放^[50]和细胞凋亡相关基因 BCL-2、BAX 的高表达^[51]。除此之外，冲击波同样可以对视觉系统产生损伤，主要表现在对视网膜的损伤和后期的严重视力障碍^[52-54]。Elasayed 等人提出冲击波对脑、心脏和脾脏等实质脏器的损伤不容忽视，并倡导在分子和生物化学水平研究冲击波对实质脏器的损伤。

2007 年张金洲等人对胸部冲击损伤进行了机制研究建立了基本模型^[55]，接下来 2012 年吕延伟等人使用激波管开展不同冲击波超压值下兔的损伤效应研究建立了损伤肺湿干比与超压间的定量关系^[56]。2013 年李旭鸿等人则关注到下肢在冲击碰撞损伤中的问题，取得部分表观量效关系为临床及康复提供了数据，2017 年王熙则结合运动员数据研究了神经-肌肉疲劳在冲击损伤中的机制问题^[57,58]。

(3) 细胞分子冲击损伤机理

机体的损伤及修复机理与冲击载荷之间的量效关系仍待探明。部分科学工作者在研究脑、眼球冲击损伤及医学工作者在临床上的工作表明，冲击损伤引发的长期慢性炎症反应会导致诸如精神疾病、器官衰竭等病症。例如，2006 年时 Kaur 等人就表明冲击波损伤引起的免疫活化发生于损伤后的 24 小时到 14 天这个时间段，且这种长期慢性炎症反应与诸多神经疾病有着重要联系；2015 年，Anna P.Miller 等人在研究脑冲击损伤（bTBI）时发现，冲击损伤引起了脑部小胶质细胞的大量活化，且分布于整个脑部，活化后的小胶质细胞分泌释放出 NO 等免疫因子，过量的免疫因子损害了自身的正常细胞且阻碍了机体修复^[58-61]。

在冲击损伤的修复过程中，同样可以看到免疫系统的身影。例如，在爆炸导致颅脑损伤（TBI）和神经损伤后，单核细胞和淋巴细胞迁移穿过上皮细胞层参与脑脊液和脑室系统的免疫应答反应，补体受体 3（CR3）、主要组织相容性复合体（MHC）抗原等免疫分子的表达量也有所增加^[59]。在视觉系统受到冲击损伤之后，与先天性免疫和获得性免疫相关的基因网络通路被活化，淋巴细胞侵入内视网膜，参与炎症反应。但是，机体应对冲击损伤的免疫应答往往会过度，例如引发全身性的炎症反应或使患者长期处于炎症状态，最终引发机体多器官衰竭，导致患者死亡。

大量研究文献资料表明，人们对于器官类生物材料的冲击动力学行为了解非常匮乏，尤其是细胞组织在冲击波载荷下的生物力学行为。人体在冲击载荷作用下的损伤机理是生物力学研究的主要课题之一。基于此，本项目拟以从力学实验装置及数值仿真和损伤机理数个方面着手^[58,62]，在离体细胞模型及活体模型两个尺度下，研究冲击载荷与机体损伤的量效关系；以免疫系统为线索，探究小胶质/巨噬细胞在冲击作用下诱导激活的有关机体免疫修复的信号通路和免疫反应机理；明确冲击力学加载与免疫损伤修复的量效关系。相关研究不仅可以为特殊环境条件下机体的免疫系统变化提供相关数

据，而且为特种医疗应对爆炸冲击损伤的救治和康复提供理论指导。

参考文献

- [1]. Yu M, Lv Q, Ding H, Zeng X, Cao J, Liu J, et al. Evaluation of blast injury patients from the 2015 Tianjin explosions in China. *Burns : Journal of the International Society for Burn Injuries*. 2016 42:1133-1140.
- [2]. Shuker ST. Explosion blast injuries: physics, biomechanics and pathophysiologic effects: a unique patterns and masked killing effects. *TOFIQ Journal of Medical Sciences*. 2016 3:1-16.
- [3]. Needham CE. Blast wave propagation. *Blast Waves*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2010, p. 87-99.
- [4]. Plurad DS. Blast injury. *Military Medicine*. 2011 176:276-282.
- [5]. Carlson KF, Nelson D, Orazem RJ, Nugent S, Cifu DX, Sayer NA. Psychiatric diagnoses among Iraq and Afghanistan war veterans screened for deployment-related traumatic brain injury. *Journal of Traumatic Stress*. 2010 23:17-24.
- [6]. Schardin H. The physical principles of the effects of a detonation. *German Aviation Medicine, World War II*. 1950 2:1207-1224.
- [7]. Wolf SJ, Bebartha VS, Bonnett CJ, Pons PT, Cantrill SV. Blast injuries. *Lancet*. 2009 374:405-415.
- [8]. Pretre R, Chilcott M. Blunt trauma to the heart and great vessels. *New England Journal of Medicine*. 1997 336:626-632.
- [9]. Stuhmiller JH, Phillips Y, Richmond D. The physics and mechanisms of primary blast injury. *Conventional Warfare: ballistic, blast and burn injuries*. 1991:241-270.
- [10]. Ho AM-H. A simple conceptual model of primary pulmonary blast injury. *Medical Hypotheses*. 2002 59:611-613.
- [11]. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*. 2008 453:314-321.
- [12]. Hart J. Inflammation. 1: Its role in the healing of acute wounds. *Journal of Wound Care*. 2002 11:205-209.
- [13]. Robson MC, Steed DL, Franz MG. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Current Problems in Surgery*. 2001 38:72-140.
- [14]. Broughton Gn, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2006 117.
- [15]. Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatologic Surgery*. 2005 31:674-686.
- [16]. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *The Journal of International Medical Research*. 2009 37:1528-1542.
- [17]. Park JE, Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *The American Journal of Surgery*. 2004 187:11S-16S.
- [18]. Italiani P, Boraschi D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation. *Frontiers in Immunology*. 2014 5.
- [19]. Koh TJ, DiPietro LA. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2011 13.
- [20]. Tompkins P, Tesiram Y, Lerner M, Gonzalez LP, Lightfoot S, Rabb CH, et al. Brain injury: neuro-inflammation, cognitive deficit, and magnetic resonance imaging in a model of blast induced traumatic brain injury. *Journal of Neurotrauma*. 2013 30:1888-1897.

- [21].Struebing FL, King R, Li Y, Chrenek MA, Lyuboslavsky PN, Sidhu CS, et al. Transcriptional changes in the mouse retina after ocular blast injury: A role for the immune system. *Journal of Neurotrauma*. 2017.
- [22].Ramlackhansingh AF, Brooks DJ, Greenwood RJ, Bose SK, Turkheimer FE, Kinnunen KM, et al. Inflammation after trauma: Microglial activation and traumatic brain injury. *Annals of Neurology*. 2011 70:374-383.
- [23].Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surgical Clinics of North America*. 1997 77:509-528.
- [24].Murray PJ, Wynn TA. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nature Reviews Immunology*. 2011 11:723-737.
- [25].Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature Reviews Immunology*. 2008 8:958-969.
- [26].Das A, Sinha M, Datta S, Abas M, Chaffee S, Sen CK, et al. Monocyte and macrophage plasticity in tissue repair and regeneration. *The American Journal of Pathology*. 2015 185:2596-2606.
- [27].Huber BR, Meabon JS, Hoffer ZS, Zhang J, Hoekstra JG, Pagulayan KF, et al. Blast exposure causes dynamic microglial/macrophage responses and microdomains of brain microvessel dysfunction. *Neuroscience*. 2016 319:206-220.
- [28].Chavko M, Prusaczyk WK, McCarron RM. Lung injury and recovery after exposure to blast overpressure. *The Journal of Trauma and Acute Aare Surgery*. 2006 61:933-942.
- [29].Choi JH, Greene WA, Johnson AJ, Chavko M, Cleland JM, McCarron RM, et al. Pathophysiology of blast-induced ocular trauma in rats after repeated exposure to low-level blast overpressure. *Clinical & Experimental Ophthalmology*. 2015 43:239-246.
- [30].Richmond DR, Goldizen VC, Clare VR, et al. The biologic response to overpressure. III. Mortality in small animals exposed in a shock tube to sharpising overpressures of 3 to 4 msec duration. *Aerosp Med*. 1962;33:1e27.
- [31].Celander H, Clemedson CJ, Ericsson UA, et al. The use of a compressed air operated shock tube for physiological blast research. *Acta Physiol Scand*. 1955;33:6e13.
- [32].Jaffin JH, McKinney L, Kinney RC, et al. A laboratory model for studying blast overpressure injury. *J Trauma*. 1987;27:349e356.
- [33].Wang Z. Blast Injury. Beijing: Peple's Military Medical Press; 1983.
- [34].Wang Z, Sun L, Yang Z, et al. The design production and application of a series of bio-shock tubes. *Explos Shock Waves*. 1993;13:77e83.
- [35].Wang Z, Leng H, Yang Z, et al. Introduction of the first bio-tube for experiment in China. *Acta Acad Med Milit Tert*. 1989;11:289e290.
- [36].Leng H, Zhao M, Wang Z, et al. A study on the loading mechanisms and process and effects of body in shock tubes. *Aerodyn Exp Meas Control*. 1993;7.
- [37].Tang C, Yang Z, Wang Z, et al. An experimental study on the effects of a biological shock tube. *Acta Acad Med Milit Tert*. 1989;11:172e174.
- [38].Zhiqiang Li1, Qingming Shu2, Lingzhi Li3, Maolin Ge4, Yongliang Zhang: Sequential expression of cyclooxygenase-2, glutamate receptor-2, and platelet activating factor receptor in rat hippocampal neurons after fluid percussion injury. *NEURAL REGENERATION RESEARCH* 2014, Volume 9, Issue 9.
- [39].Singleton JA, Gibb IE, Bull AM, Mahoney PF, Clasper JC. Primary blast lung injury prevalence and fatal injuries from explosions: insights from postmortem computed tomographic analysis of 121 improvised explosive device fatalities. *The Journal of Trauma and Acute Aare Surgery*. 2013 75: S269-S274.
- [40].Shen H-Y, Zhao Y, Chen X-Y, Xiong R-P, Lu J-L, Chen J-F, et al. Differential alteration of heat shock protein 90 in mice modifies glucocorticoid receptor function and susceptibility to trauma. *Journal of Neurotrauma*. 2010 27:373-381.
- [41].Ning Y-L, Yang N, Chen X, Xiong R-P, Zhang X-Z, Li P, et al. Adenosine A2A receptor deficiency alleviates blast-induced cognitive dysfunction. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2013 33:1789-1798.

- [42]. Chongkolwatana C, Atipas S, Metheetrairut C. Blast injury of the ears. *Siriraj Medical Journal*. 2017 61:228-229.
- [43]. 孙艳馥, 王欣. 爆炸冲击波对人体损伤与防护分析. *火炸药学报*. 2008 31:50-53.
- [44]. McDonald Johnston A, Ballard M. Primary blast lung injury. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2015 191:1462-1463.
- [45]. Barnard E, Johnston A. Images in clinical medicine. Blast lung. *The New England Journal of Medicine*. 2013 368:1045.
- [46]. Zhao Y, Zhou Y-G. The past and present of blast injury research in China. *Chinese Journal of Traumatology*. 2015 18:194-200.
- [47]. Elder GA, Gama Sosa MA, De Gasperi R, Stone JR, Dickstein DL, Haghighi F, et al. Vascular and inflammatory factors in the pathophysiology of blast-induced brain injury. *Frontiers in Neurology*. 2015 6:48.
- [48]. Song H, Cui J, Simonyi A, Johnson CE, Hubler GK, DePalma RG, et al. Linking blast physics to biological outcomes in mild traumatic brain injury: narrative review and preliminary report of an open-field blast model. *Behavioural Brain Research*. 2016.
- [49]. 赵辉, 朱峰. 原发性颅脑冲击伤的生物力学机制. *创伤外科杂志*. 2016 18:375-378.
- [50]. Cernak I, Wang Z, Jiang J, Bian X, Savic J. Cognitive deficits following blast injury-induced neurotrauma: possible involvement of nitric oxide. *Brain injury*. 2001 15:593-612.
- [51]. 任东青, 王琦, 赵涛, 张杰, 曾桂英. 大鼠脑皮层冲击伤中 BCL-2、BAX 的表达变化. *基础医学与临床*. 2008 28:335-339.
- [52]. Struebing FL, King R, Li Y, Chrenek MA, Lyuboslavsky PN, Sidhu CS, et al. Transcriptional changes in the mouse retina after ocular blast injury: A role for the immune system. *Journal of Neurotrauma*. 2017.
- [53]. 刘大维, 谢伯林, 周继红, 李晓炎, 朱佩芳, 蒋建新, et al. 兔眼冲击伤后视网膜损伤的病理学变化. *创伤外科杂志*. 2001 3:272-274.
- [54]. 陈穗桦, 薛春燕, 姜涛, 张慧, 郑颖鹃, 姜忠翠, et al. 兔眼冲击伤后早期视网膜超微结构改变. *医学研究生学报*. 2008 21:145-147.
- [55]. 张金洲 et al. 胸部爆炸伤后原发和继发性肺损伤机制研究[J]. *创伤外科杂志*, 2007(04):65-68.
- [56]. 吕延伟 et al. 不同程度冲击波对兔生理系统的损伤效应. *爆炸与冲击*, 2012, 32 (1) :97-102.
- [57]. 李旭鸿 et al. 落地冲击引起下肢损伤的生物力学研究进展. *中国运动医学杂志*, 2013, 32 (2) :186-191.
- [58]. Stephen J Wolf, Vikhyat S Bebarta, Carl J Bonnett, Peter T Pons, Stephen V Cantrill: Blast injuries. *Lancet* 2009; 374: 405–15.
- [59]. Plurad, David S. "Blast injury." *Military medicine* 176.3 (2011): 276-282.
- [60]. Zhiqiang Li1, Qingming Shu2, Lingzhi Li3, Maolin Ge4, Yongliang Zhang5: Sequential expression of cyclooxygenase-2, glutamate receptor-2, and platelet activating factor receptor in rat hippocampal neurons after fluid percussion injury. *NEURAL REGENERATION RESEARCH* May 2014, Volume 9, Issue 9.
- [61]. Radia Abdul Wahab a, Eric J. Neuberger b, Bruce G. Lyeth c, Vijayalakshmi Santhakumar b, Bryan J. Pfister: Fluid percussion injury device for the precise control of injury parameters. *Journal of Neuroscience Methods* 248 (2015) 16–26.
- [62]. 王熙 et al. 神经—肌肉疲劳前后运动鞋对落地冲击的下肢生物力学影响. *上海体育学院*, 2017.

现有工作基础及成果

已发表文章 1 篇：小鼠巨噬细胞对爆炸冲击损伤的力学生物学响应研究，医用生物力学；

已申请发明专利 1 项（受理中）；已授权实用新型专利 1 项：基于霍普金森杆的细胞冲击加载装置。

二、学位论文研究内容

学位论文的研究目标、研究内容及拟解决的关键性问题（可续页）

1. 研究目标

- （1）设计搭建适用于细胞的单次冲击加载实验平台，建立细胞冲击损伤模型；
- （2）建立动物冲击损伤模型，探究冲击对动物主要组织器官损伤过程的分析、预测、评估体系；
- （3）以免疫系统为研究中心，揭示冲击载荷与动物及细胞的量效关系，明确多尺度生物模型下的冲击载荷诱发的损伤及修复过程中的理论机制。

2. 研究内容

以研究尺度进行划分，本课题主要分为细胞冲击损伤研究和动物冲击损伤研究两部分研究内容：

2.1 细胞冲击损伤研究：

- a. 实验室条件下对细胞冲击模拟加载实验方法和实验平台的建设，建立细胞冲击模型，探索和理解细胞在单次冲击载荷下的损伤机理；
- b. 基于 R. Skalak 等人不断完善的水锤理论模型，针对细胞必需在细胞溶液内且保证无菌等环境，进行设计、搭建细胞冲击加载平台；
- c. 利用细胞冲击加载平台，对小鼠小胶质/巨噬细胞系进行不同强度梯度的冲击实验，在冲击后的不同时间点取样，结合影像学、分子生物学和转录组学的技术方法，研究小胶质/巨噬细胞在冲击损伤及免疫修复过程中的生理、病理变化规律；
- d. 然后，结合文献和实验数据情况，确定小胶质/巨噬细胞在冲击损伤和免疫修复过程中的变化规律，结合转录组学数据分析，找到小胶质/巨噬细胞在冲击作用下诱导激活的主要信号通路和关键分子靶点，为冲击损伤的临床治疗和康复干预提供理论指导。

2.2 动物冲击损伤研究：

- a. 实验室激波管条件下对小鼠进行活体冲击加载，从组织器官、细胞、分子等不同层次研究免疫系统参与机体冲击损伤及免疫修复过程机理；
- b. 利用激波管冲击实验平台，建立稳定的小鼠冲击损伤模型；
- c. 对小鼠进行不同超压幅值的冲击加载，在 48 h 内多个时间点检测小鼠脑、肺、心脏等组织脏器的病理损伤情况，并对其血液样本做病理分析，探究其 48 h 内的病理损伤变化规律；
- d. 利用免疫荧光、蛋白定量等生物学技术，以小胶质/巨噬细胞类为研究对象，探究免疫应激变化规律来分析小鼠的脑、肺、心脏等组织器官的潜在损伤、修复过程及其内在可能的损伤、修复机理。

3. 拟解决的关键问题

探究冲击损伤机理包括：1. 从离体细胞模型着手研究的信号通路等问题；2. 以及从动物模型着手研究的宏观损伤、修复机理问题。

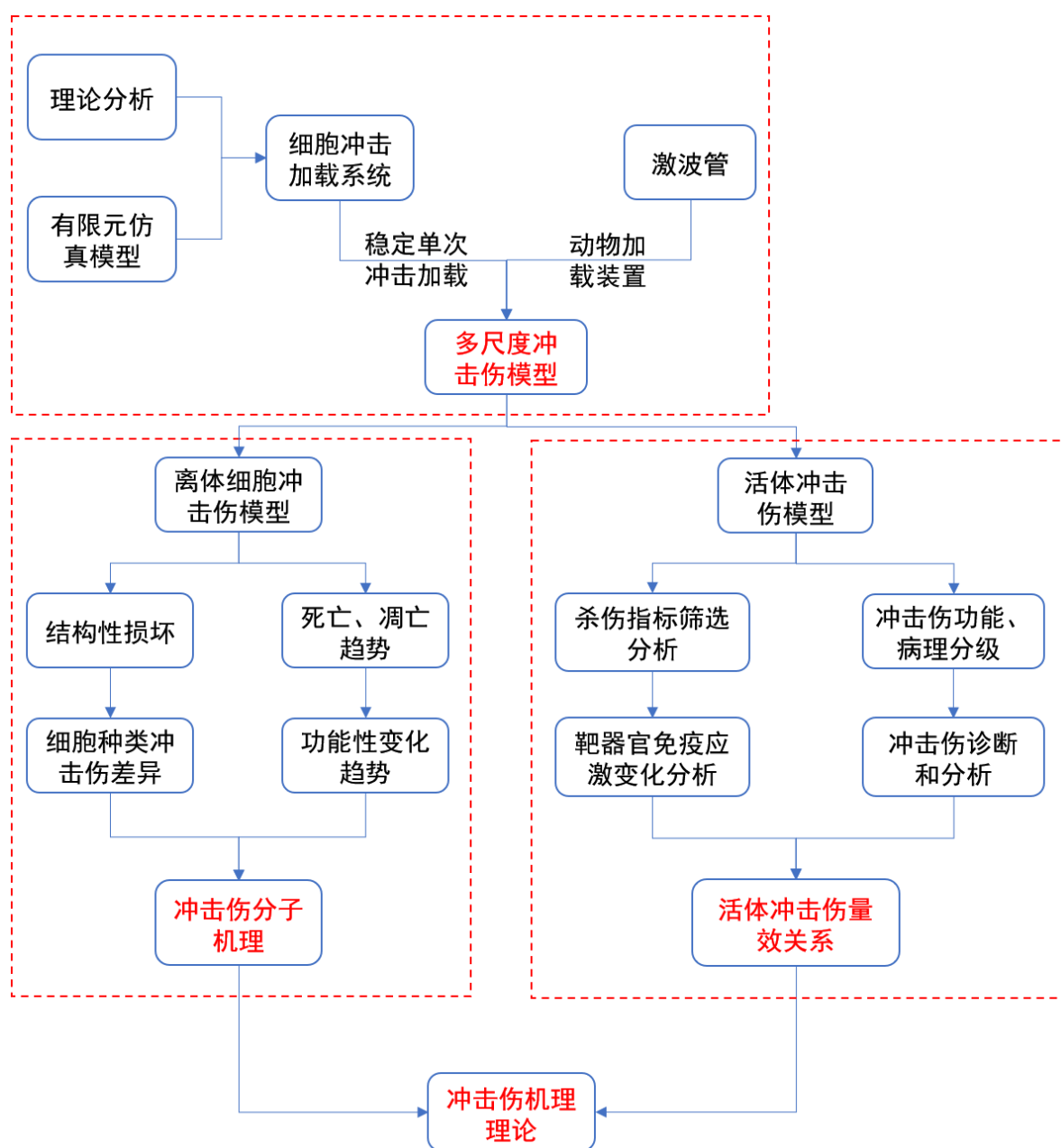
对于离体细胞的冲击模型建立，目前实验室条件下的实验平台很难精确测定细胞受力情况且细胞受到了多次的冲击反射加载，实际情况较为复杂；对于冲击对机体的损伤研究，目前的研究主要集中在冲击对空腔组织，如耳膜、肺等器官，以及少部分神经组织，如脑、中枢神经系统等方面的研究。但是有关冲击对机体免疫系统损伤的研究，以及损伤修复过程中免疫系统承担何种角色的研究比较有限。因此，本课题拟解决的关键问题为：

- a. 构建适用于细胞和活体动物的多尺度冲击模型，建立稳定、精确有效的实验平台及方法建立；
- b. 在离体细胞模型及活体模型两个尺度下，研究冲击载荷与小胶质/巨噬细胞的结构、功能等变化之间的量效关系，探究小胶质/巨噬细胞在冲击作用下诱导激活的有关机体免疫修复的信号通路和免疫反应机理；
- c. 探究爆炸冲击波的生物杀伤机理和伤情评估。

三、学位论文研究计划及预期目标

1.拟采取的主要理论、研究方法、技术路线和实施方案（可续页）

研究方案



技术路线图如上所示，以多尺度冲击伤模型的建立和生物学冲击伤分析两大部分为主进行研究，最终在得到稳定的冲击伤模型后，在多尺度环境下探究冲击伤机理理论。

实验方案

1. 细胞冲击加载系统的建立

1.1 装置设计及 Fluid-Structure Interaction 理论分析

(1) 装置的设计需满足以下两点：

- 小容量，不含毒性，需装载含细胞的培养液，允许高温高压灭菌；
- 单次应力波加载，尽可能降低反射波，力学变量因素单一化。

根据该需求，参考一次性医用针筒为原型，以 Initial Flow 情况下的水锤为理论模型，设计如下的初始冲击加载系统。

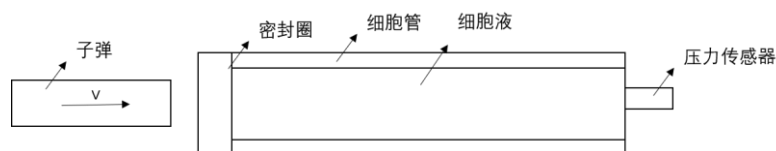


图 3.初始冲击加载简图

(2) 对上述初始设计的加载系统进行冲击分析，可实际测得数据包括：管壁环向应变，管壁轴向应变，端口液体压力值。需对其系统的具体应力波传播过程进行分析，对比实验数据与理论分析，最终证明该系统是否可满足设计需求。该系统在应力波分析时，可根据 Fluid-Structure Interaction (FSI) 理论进行分析，其系统内存在的应力波关系如下：

- 管壁环向：1.Primary Wave，由液体环向膨胀受压产生的拉伸波，与液体内压缩波同步传播；2.Precursor Wave，由于泊松效应，轴向拉伸波引发的环向压缩波，以管壁波速向前传播。
- 管壁轴向：1.Primary Wave，在同单元由于环向的膨胀泊松效应下产生的压缩波，与液体内压缩波同步传播；2.Precursor Wave，因环向膨胀使该部位缩短导致附近单元被拉长而产生的拉伸波，以管壁波速向前传播。
- 管内液体：由撞击直接产生的压缩波以管内液体波速向前传播。

在管壁设置两个相距一定距离的环向应变片，以计算波速，实验环向波形如下图 4 所示，可观测到较小的 Precursor Wave 且两个波波速与理论模型一致。

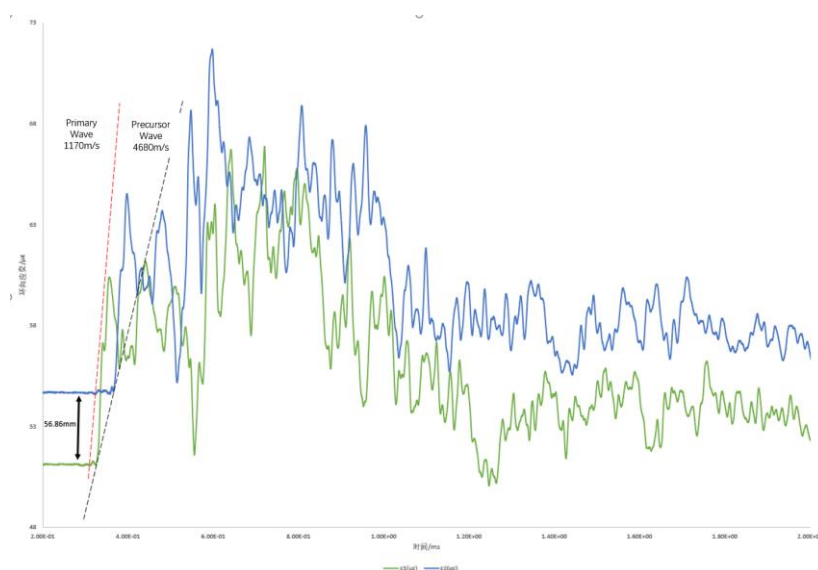


图 4.环向应变波形图

1.2 冲击加载实验装置的标定系统与细胞实验系统

(1) 压力传感器可直接测得液体内压力波形，该压力为液体内压力峰值的两倍，可采用短子弹保证环向应变波形完整的情况下，将环向应变峰值=液压峰值建立函数关系，对该系统进行标定，在 Initial Flow 的水锤理论情况下，可推导得出理论环向应变峰值-液压峰值函数如下：

$$\varepsilon_{\varphi} = \frac{1}{E} \left(\frac{R}{e} \frac{1}{1 + \frac{1}{2R}} (P - P_{out}) - (1 - \nu) P_{out} \right) \quad (1)$$

实际标定图如下图 5 所示，在细胞实验时，只需要测得环向/轴向应变即可得到细胞具体受冲击强度情况：

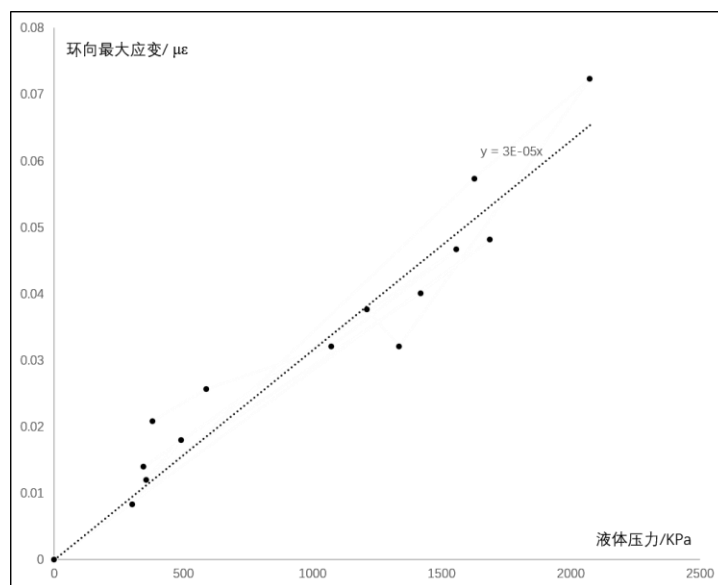


图 5.环向应变峰值=液压峰值

(2) 在细胞实验系统中，为保证细胞受冲击仅为单方向单次，需要尽可能减小反射波，于是可设置延长管，如下图 6 所示：



图 6.延长管装配实验图

对装载细胞的管子使用丁腈橡胶封口，由于丁腈橡胶与水/细胞培养液的波阻抗相近，应力波将以非常大的透射波形式继续在延长管的水/细胞培养液中传播，反射情况可通过环向应变波形获得，如下图 7 所示。

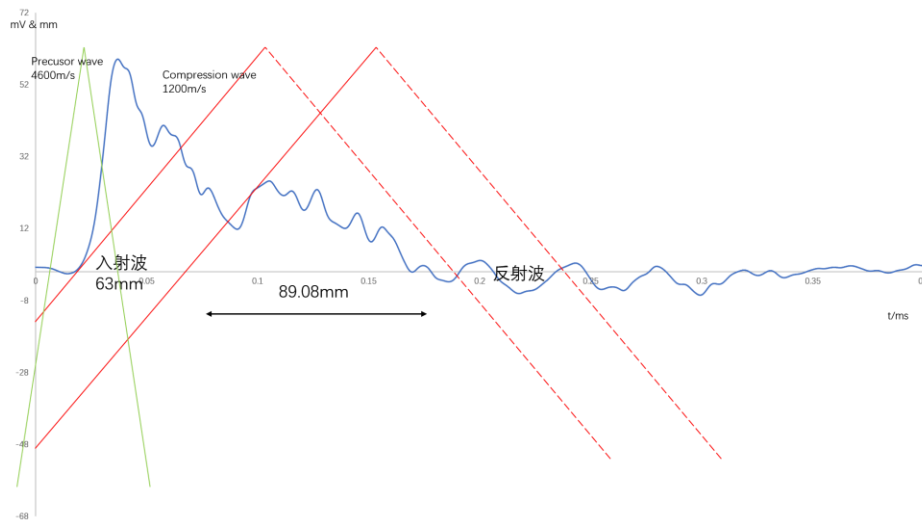


图 7.环向应变电信号波形图

通过以上方式，设计搭建出稳定的可对细胞产生单次冲击加载的冲击实验系统，该系统包括标定系统和实验系统两部分，此外，可对该冲击过程使用 LS-DYNA 做有限元模拟，明确整个过程并可对更多峰值、脉宽需求情况进行预测计算。

2.离体细胞冲击伤机理研究

(1) 加载后巨噬细胞的形态、分布变化情况

将加载受力前的细胞、加载受力之后培养不同时间点的细胞分别收集，检测细胞的形态学变化过程；同时，对各组织切片中巨噬细胞进行染色，观察巨噬细胞的分布情况随时间的变化过程。

(2) 加载后巨噬细胞的功能变化情况检测

检测小胶质/巨噬细胞的主要免疫学功能，如吞噬能力、细胞迁移能力等；检测细胞因子如 IL-1 β 、TNF- α ，IL-10，IL-6 以及参与应急氧化反应和硝化反应的 iNOS、NO 等的释放情况；同时，提取 RNA，用 real-time PCR 的方法检测上述炎症因子的表达情况；并利用流式细胞术，使用荧光标记的小鼠小胶质/巨噬细胞 M1 型和 M2 型特异的抗体，对上述收集的细胞进行荧光染色，研究小胶质/巨噬细胞的极化情况。

(3) 组学技术揭示冲击损伤免疫修复的分子机理

检测受冲击小胶质/巨噬细胞的转录组表达谱变化情况，结合上述细胞生物学和分子生物学相关结果，寻找冲击损伤及免疫修复过程中的相关信号通路和主要作用靶点，为冲击损伤的临床治疗和康复干预提供理论指导。

3.活体冲击伤模型的建立及冲击伤机理研究

(1) 活体冲击伤模型的建立：

根据近年来文献的佐证，因冲击波具有内爆、撕裂等杀伤特性，肺部（空腔器官）的剧烈病理表现可以作为活体冲击伤模型建立是否成功的依据。使用激波管对 C57 小鼠侧身位进行冲击，下图 3 为受 179KPa、25ms 冲击波作用后 24 h 内的肺部病理切片。

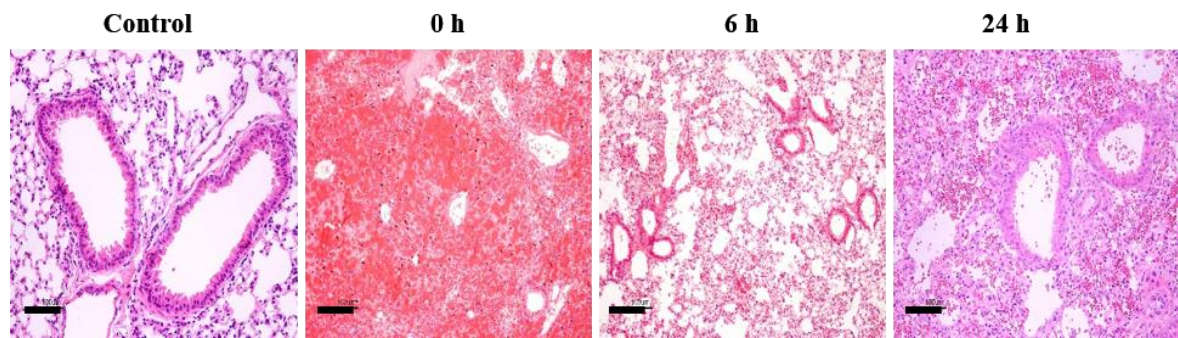


图 8.冲击伤后肺病理切片

如上图 8 所示，肺部加载冲击后 0 h 小鼠肺组织血管大量破损，释放大量红细胞，支气管空腔中存在浸入的血液；冲击后 6 h 小鼠支气管和肺泡、间质中仍存在大量的血红细胞浸润，出现一定量的肺泡囊状结构的破损，无明显肺泡蛋白质沉积；而在冲击后 24 h 则出现了非常明显的肺大疱现象并有出现肺泡死腔的趋势，且有严重的肺泡蛋白质沉积症和水肿，各个部位均被血红细胞浸润。

以上病理特征即可证明活体冲击伤模型建立完成。

(2) 冲击波损伤的病生规律及量效关系

对于冲击波作用后受损伤小动物进行生命体征监测和行为学变化研究。借助于生命检测仪、血气分析仪和肺功能仪等监测动物的生命体征、肺功能的退化等；并通过动物神经功能行为学量表（NSS）对小动物从体感和运动系统、反射和行为、功能性实验等方面进行评定。结合冲击波试验中测得的生理指标变化，综合判定小动物的损伤程度和功能及行为变化。

对冲击波作用后含损伤的生物体典型部位进行功能障碍研究和病理生理学研究。探究冲击伤的病程发展特点和死亡风险因素，结合医学影像学和解剖病理技术对损伤区域形态和结构变化的研究，建立功能障碍类型与组织损毁程度之间的关系；通过生物分析方法对冲击波损伤后机体的炎症反应和应激反应进行研究，探索和筛选具有特异性和敏感性的生物标志物，明确机体对冲击波损伤的发病机制及应答机制，建立损伤程度与特异性生物标志物之间的量效关系。

提取冲击波损伤后的小动物的血液、组织液、脑脊液中的具有特异性和敏感性的生物标志物，研究损伤后生物体的炎症应激反应、氧化应激反应和细胞基因分子变化。

具体实验安排如下：

- 采用激波管进行冲击模拟，对小鼠正面进行从 70 kPa 开始的幅值阶梯增长式冲击实验，记录小鼠实验前后的包括血压心跳在内的生理指标；
- 对当场死亡的小鼠立即进行解剖，对脑、心肺、肺等重要脏器做损伤切片分析损伤情况，并且，重点监测小胶质/巨噬细胞的分布、活化；
- 对尚未死亡的小鼠继续喂养，观察记录其生理活动，检测其如 IL-1 β , TNF- α , IL-

10, IL-6 等重要炎症因子的基因表达变化过程及细胞因子的释放情况,记录其死亡时间并做损伤切片;

- d. 分析损伤情况和相关细胞因子检测水平,与细胞实验结果相结合,推论小鼠免疫系统在冲击损伤及免疫修复过程中的应答机制。

总结上述动物实验和细胞实验的相关结果,推测出动物、细胞、分子等不同层次研究冲击载荷与其结构、功能等变化之间的量效关系,探究其在冲击载荷作用下诱导激活的机体免疫修复的信号通路和免疫反应机理,明确冲击力学加载与机体免疫损伤的量效关系。以上研究不仅可以为特殊环境条件下机体的免疫系统变化提供相关数据,同时还为特种医疗应对爆炸冲击损伤的救治和康复提供理论依据。

2. 研究计划可行性, 研究条件落实情况, 可能存在的问题及解决办法 (可续页)

研究条件

本冲击动力学课题组, 拥有“固体力学”国家级专业实验室、“动力学与强度”国防重点学科实验室、“飞行器结构力学与强度技术”省重点实验室及“冲击动力学及工程应用”国际联合研究中心。试验室配备完整的大尺寸激波管, 动态加载用分离式霍普金森压杆及拉杆。同时, 本课题得到了“特殊环境生物力学与医学工程”研究中心和“空间生物实验模拟技术”国防重点学科实验室的支持, 具备开展本课题研究所需要的系列仪器、设备和设施, 包括细胞培养室、组织切片机、冷冻离心机、荧光显微镜、普通PCR仪、凝胶成像系统、电泳仪、实时荧光定量PCR仪、流式细胞仪、

双光子激光共聚焦显微镜，故本课题所制定计划具备充分的可行性。

可能的问题及解决办法

1.问题

- a. 细胞的加载环境需要保证无菌密封且不应在针筒中滞留时间过长以减小其他因素的影响，针筒需要进行高温高压紫外灭菌，且需要从针筒上应变片得到细胞液内的压力参数，对于针筒的设计和细胞如何进行装载是一个非常棘手的问题；
- b. 由于细胞实验需要大量冲击数据，故针筒容积不能太大，这就限制了针筒的尺寸必须尽可能的小，对于这样小尺寸的针筒，应力波的波长以及应变片自身长度就需要进行考量在计算应力波相位速度时，此外，子弹的长度以及速度也需要做限制，故而如何在实际生物实验需求下加载应力波是一个必须解决的问题。

2.解决办法

- a. 针筒可以先进行高压灭菌，然后在超净台内进行贴应变片等操作，然后再灌满细胞液，这样尽可能的缩短了时间，但需要对操作内所有部件做紫外照射灭菌处理，步骤较为复杂；
- b. 针筒材质选取无缝毛细管，将容积控制在10 ml左右，此外，采用弹簧管弹射子弹的方式撞击针筒产生应力波，该方式可以简易的控制子弹初速度且允许使用30 mm内的子弹以便于数据采集。

3.研究计划及预期成果

	起止年月	完成内容
研 究 计 划	2019.3-2020.3	设计搭建完成细胞冲击加载系统，完成理论分析和细胞模型的建立
	2020.3-2020.12	细胞冲击加载系统仿真模拟，进行细胞冲击生物学实验，建立动物冲击伤模型，论文发表
	2021.1-2021.12	完成细胞冲击损伤机理研究，进行动物冲击伤实验研究，论文发表
	2022.1-2022.6	补充必要实验，撰写博士论文，进行论文答辩

预期创新点及成果形式

创新点

(1) 建立细胞、动物的动态冲击加载实验平台及仿真方法

本课题设计搭建了适用于细胞的冲击加载实验平台，实现对细胞稳定、精准的单次冲击加载；通过动物实验模拟真实冲击损伤，研究活体动物在冲击载荷作用下的器官响应及损伤机理，以此为基础为评价人体冲击损伤提供研究平台。

(2) 建立冲击与损伤之间的量效关系

本课题综合分析活体动物、组织器官、细胞及分子水平损伤的实验数据，建立冲击载荷与损伤之间的量效关系，为冲击损伤的量效评估奠定基础。

(3) 冲击损伤的应激修复机制

不同于其他相关研究，本课题以冲击损伤应激修复过程中最为关键的免疫系统入手，以巨噬细胞为主体，研究小胶质/巨噬细胞的结构、功能等变化与冲击载荷之间的量效关系，明确小胶质/巨噬细胞在冲击作用下诱导激活的有关机体免疫修复的信号通路和免疫反应机理，为冲击损伤的临床治疗提供一个可参考的方案。

成果形式

预期成果为专利 2-3 项，期刊 3-5 篇。

备注