

원자힘 현미경을 이용한 활액이 소 연골의 미세 마찰특성에 작용하는 역할

The Role of Synovial Fluid in the Micro-scale Frictional Response of Bovine Articular Cartilage from Atomic Force Microscopy

✉ 박성훈¹

✉ Seonghun Park¹

¹ 부산대학교 기계공학부 (School of Mechanical Engineering, Pusan National Univ.)

✉ Corresponding author: paks@pusan.ac.kr, Tel: 051-510-2330

Manuscript received: 2008.2.11 / Revised: 2008.7.9 / Accepted: 2008.9.9

The objective of this study was to compare micro-scale friction coefficients with and without synovial fluid, and micro-scale measurements were performed using atomic force microscopy (AFM) with a 5 μm spherical probe. Four cylindrical cartilage specimens were harvested from two fresh bovine humeral heads (4-6 months old). Average \pm standard deviation values of the micro-scale AFM frictional coefficients calculated from the linear fit of friction versus normal force was 0.177 ± 0.012 and 0.130 ± 0.010 with and without synovial fluid coating on AFM probe respectively, showing its reduction by $\sim 27\%$ with synovial fluid. To the best of our knowledge, this experimental study investigates the first such comparisons of frictional response of articular cartilage with and without synovial fluid coating on AFM probe, and provides significant insights into the role of synovial fluid in the articular cartilage friction and lubrication independently of the confounding effect of fluid pressurization in the articular cartilage.

Key Words: Articular Cartilage (연골), Atomic Force Microscopy (원자힘 현미경), Micro-scale Frictional Response (미세 마찰특성), Synovial Fluid (활액), Boundary Lubricants (표면윤활제), Biomechanics (생체역학)

1. 서론

연골(articular cartilage)은 인체 내에서 가해지는 하중이 관절에 전달될 때에 그 전달되는 하중을 지지하거나, 관절이 회전 운동을 할 때에 마찰을 감소시켜서, 마모를 줄이는 베어링(bearing)의 역할을 한다.¹⁻⁶ 이러한 연골이 인체의 3-4 배나 되는 하중을 지지하고 낮은 마찰 계수를 유지하는데 관절 내부 연골의 유체가 결정적인 기여를 한다고 연구되었다.^{3,4,7} 연골이 낮은 마찰 계수를 유지하는데 미치는 또 다른 영향은 바로 윤활작용 때문인

데, 기존 연구에 의하면, 관절 운동에서 발생하는 느린 속도와 관절에 가해지는 높은 하중은 연골에 fluid film 윤활작용(i.e., hydrodynamic, elastohydrodynamic, squeeze film lubrication)을 생성시키는데 적합한 조건이 되지 못해서 표면 윤활작용 윤활작용(boundary lubrication)이 발생한다고 보고되고 있고, 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.⁸⁻¹⁴ 또, 연골에서 표면 윤활작용이 발생할 때, 많은 연구자들이 활액(synovial fluid)이 윤활제 역할을 한다고 발표하였다.^{1,10,11,15,16}

원자힘 현미경(Atomic Force Microscopy, AFM)은

주로 나노-스케일(nano-scale)과 마이크로-스케일(micro-scale)에서 공학적/생물학적 재료의 표면거칠기, 마모, 탄성강도와 같은 표면특성과 기계적 물성치를 파악하는데 사용되었다.¹⁷⁻²¹ 또, AFM 이 마이크로-스케일에서 하이드로젤(hydrogels), 인지질 흡착 표면(phospholipid co-adsorbed layer), 덴틴(dentin), 에나멜(enamel), 덴티노에나멜 교차점(dentino-enamel junction), 인체 모발, 연골 등과 같은 생체 재료의 마찰 특성을 파악하는데 사용되었다.²²⁻²⁵ AFM 을 이용한 마이크로-스케일에서의 연골의 마찰 특성 파악은 Park 등에 의해서 보고되었지만,⁷ 마이크로-스케일에서 활액이 표면윤활제로서 연골에 작용하는 역할을 파악하는 데는 아직까지 AFM 이 사용되지 않고 있다. 관절 내부에 존재하는 연골은 매크로-스케일(macro-scale)에서 연골 내부 유체의 하중 지지에 의해서, 그 마찰계수가 최소값에서 최대값으로 증가한다고 알려져 있다.^{1-4,26} 이와 같은 유체의 영향으로 인한 연골 마찰계수 변화는 마찰계수 차이를 이용하여 활액이 연골의 표면윤활제로 어떻게 작용하는 지를 밝히는 데에 많은 어려움을 줄 뿐만 아니라, 이 과정에서 소요되는 많은 시간의 문제점 외에도 이로 말미암아 연골과 표면윤활제들의 손상(degeneration, wear)이 야기될 수도 있다. 즉, 매크로-스케일에서는 표면윤활제의 역할을 파악하기 위하여 연골의 마찰계수의 변화를 조사하는데, 연골 내부 유체와 표면윤활제라는 두 개의 변수가 생긴다. 하지만 AFM 을 이용한 마이크로-스케일에서의 마찰계수 파악은 연골 내부 유체의 영향이 배제된 연골 내부 고체만의 마찰계수에 상응하는 값을 가진다.⁷ 따라서, 연골 내부 유체라는 변수를 제외할 수 있어서 활액이 표면윤활제로서 작용하는 역할을 파악하는데 AFM 이 유용하게 사용될 수 있다.

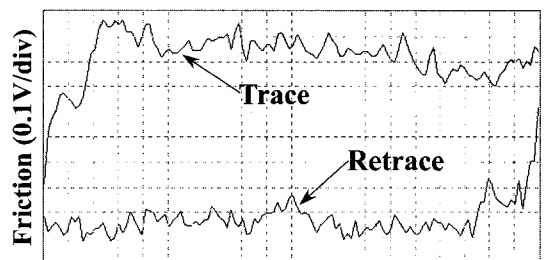
일반적으로 마찰력은 흡착력(adhesion force), 탄성 변형에 의한 탄성력(elastic force), 비탄성 변형에 의한 플로잉 힘(plowing force)으로 구성되고, 마찰계수를 구하는데 있어서, 수직 하중의 크기에 영향을 받지 않기 위해서는 이 세 힘들 중 플로잉 힘은 최소화 되어야 한다.²⁷ Habelitz 등은 이 플로잉 힘을 최소화시키기 위하여서 AFM 장비를 사용할 때, 상대적으로 큰 10 μm 반지름의 구형 캔틸리버 프로브(spherical cantilever probe)를 사용하였고, 수직 하중을 ~50-600 μN 을 가했을 때 인터블라(interblular) 덴틴의 마찰계수는 약 0.31, 에나멜의 마찰계수는 약 0.14 에 해당하였다.²² 따라서, 본

연구의 목적은 상대적으로 큰 AFM 구형 캔틸리버 프로브(5 μm 지름)를 사용하고 기존에 보고된 해석 방법을 적용하여서 활액이 연골의 표면윤활제로서 작용하는 역할을 조사하는 것이다.²⁸

2. 실험재료 및 방법

2.1 실험재료

2 마리의 건강한 송아지 (나이: 4-6 개월) 어깨 관절들을 인근 지역에 위치한 도살장에서 구입하였고, 구입한 즉시 송아지 어깨 관절들을 해부하여서 상완골(humeral head)을 둘러싸고 있는 연부 조직(soft tissues)들을 제거하였다. 이 연부 조직이 제거된 상완골로부터 박질기(sledge microtome; Model 1400, Leiz, USA)를 사용하여서, 4 개의 원기둥 모양의 시편(지름: 8 mm, 두께: 1 mm)들을 만들었다. 이 때, 시편의 표면을 평편하게 만들고, 연골의 석회화 된 부분(subchondral bone)과 혈관성 조직(vascularized tissue)을 제거하기 위하여 연골의 뼈에 가까운 부위로부터 약 1 mm 정도를 제거하였다 (연골의 표면 부위는 절단시키지 않고 잘 보존 시킴). 모든 시편들은 실험에 사용될 때까지 (시편들을 채취한 후에 하루 이내 실험 수행) PBS (Phosphate Buffered Saline; Gibco-BRL, USA)와 단백질 분해방지제(protease inhibitor; Roche, Germany)가



One scan line (5 $\mu\text{m}/\text{div}$)

Fig. 1 Typical profile of the frictional voltage signal, as a sample is scanned back (retrace) and forth (trace) in the direction perpendicular to the cantilever beam

담긴 용액 속에서 4°C 로 유지시키면서 보관하고, 실험 직전에 이 원기둥 모양의 시편들을 자체 제작한 마찰 실험 장비의 앞의 PBS 와 단백질 분해방지제가 담긴 용기에 장착하였다. 실험에 사용된 활액은 송아지 어깨 관절로부터 수집되었다.

2.2 실험장비 및 방법

AFM 을 이용하여 마찰계수를 측정하기 위하여, 먼저 연골 시편들을 35mm 폴리스티렌 페트리 디쉬(polystyrene petri dish)에 시아노아크릴레이트 접착제(cyanoacrylate glue)를 이용하여 고정시켰다. 왕복(trace and retrace) 마찰 전압신호(frictional voltage signal)는 Bioscope AFM (Digital Instruments, USA) 장비를 이용하여 Z-범위를 12 μm 로 맞추고, PBS (Physiological Buffered Saline) 용액에 연골 시편을 완전히 잠기게 한 후에 측정하였다(Fig. 1). 지름 5 μm 구형 프로브 (spherical probe; Novascan Technologies, USA)는 실리콘-나이트라이드(silicon-nitride) 재질로 만들어졌고, 스프링 상수, k 는 0.06 nN/nm 의 값을 가졌다. PBS 와 샘플의 온도가 상온과 평형이 되도록 하기 위하여서 30 분 동안 실내에 놓아두었고, 연골 샘플이 바뀐 후에 처음 AFM 이미지를 측정하기 전에 AFM 장비에 장착된 프로브는 실내온도와 열 평형(thermal equilibrium)을 이루도록 적어도 20 분 동안 PBS 용액 속에 놓아두었다. 마찰신호는 90° 스캔 각도로 일정한 하중 하에서 측정되었다.²⁹ 즉, 페트리 디쉬에 놓인 연골 시편은 캔틸리버의 장축에 수직인 방향으로 래스터 스캔 모드(raster scan mode)에서 200 $\mu\text{m}/\text{s}$ 의 속도로 100 \times 100 μm^2 (128 \times 128 pixels)의 면적을 128 초 동안 움직였다(Fig. 2). 100 \times 100 μm^2 의 스캔 면적에 대한 트레이스와 리트레이스 마찰 전압신호 이미지는 AFM 장비에 장착된 Nanoscope III 소프트웨어(Digital Instruments, USA)를 이용하여서 스캔 면적에 대한 평균값을 구하였다. 이 트레이스 이미지 평균값과 리트레이스 이미지 평균값 차이의 1/2, 즉 (트레이스 이미지 평균값 - 리트레이스 이미지 평균값)/2 는 순수한 마찰의 영향만을 고려한 전압신호를 나타낸다. 이 마찰 전압신호를 힘의 단위(nN unit)로 변환시키기 위하여, 기존의 논문에서 사용된 방법을 적용하여서, 플래티넘(platinum)을 이용한 캘리브레이션 실험(calibration test)을 수행한 후에 마찰 전압신호를 힘의 단위로 변환시키는 변환 계수를 구하였다.^{28,30} 본 연구의 캘리브레이션 실험에서 구한 변환 계수는 35.36 nN/V 이다. 마찰 전압신호를 측정할 때, 수직 하중을 단계적으로 다섯 번 증가시켜서 다섯 번의 수직 하중 각각에 대하여서 마찰 신호를 측정하였다. 수직 하중은 캔틸리버 프로브의 순수한 수직 편향 전압 값(vertical deflection voltage signal)으로부터 PBS 용액 속에 놓여진 유리(glass)에서 측정된

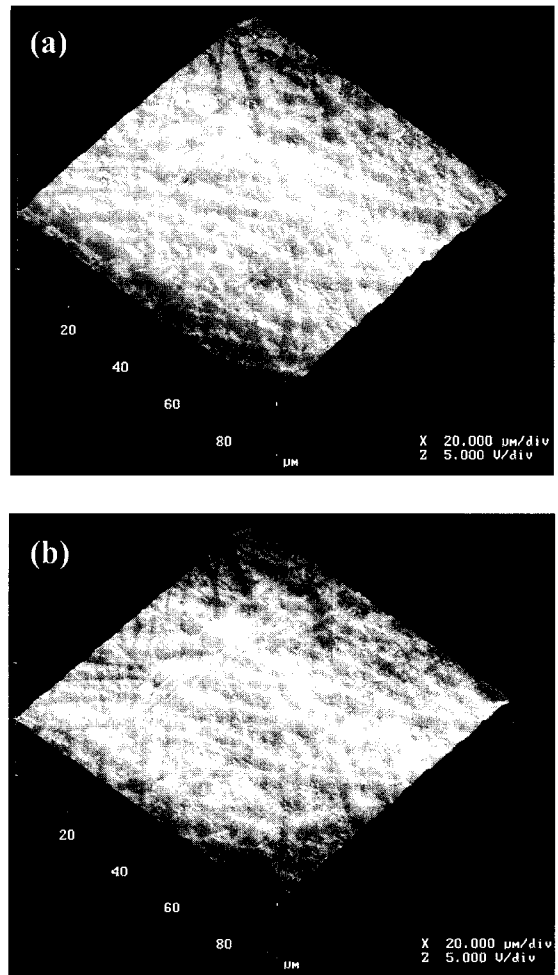


Fig. 2 Trace (a) and retrace (b) frictional voltage signal over the 100 \times 100 μm^2 test area (vertical range = 10V)

AFM 편향 민감도(128.1nm/V)와 프로브의 스프링 상수 값(0.06 nN/nm)을 이용하여서 힘의 단위로 변환시켜서 구하였다. 수직 하중은 단계적으로 다섯 번 증가시켰으며, 매 단계의 수직 하중 하에서 마찰력을 구하였고, 그 결과 각 연골 시편마다 총 다섯 개의 수직하중과 다섯 개의 마찰력(각 수직 하중에서의 마찰력)을 구하였다. 이 수직 하중과 마찰력의 그래프로부터 선형 직선 기울기를 계산하여서 마찰계수를 산정하였다(Fig. 3). 활액이 마이크로-스케일에서의 연골 마찰계수에 미치는 영향을 파악하기 위하여, 활액을 AFM 프로브의 끝에 코팅(coating)한 후에 위의 방법과 동일한 방법으로 연골 마찰계수를 구하였다.

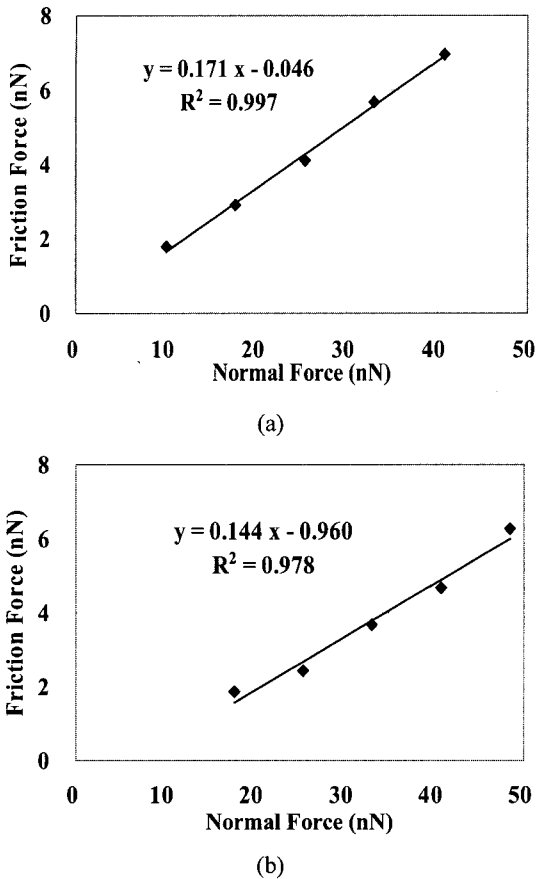


Fig. 3 Typical plot of AFM frictional force versus normal load over five load increments, with the slope yielding micro-scale AFM friction coefficients. (a) AFM probe was not coated by synovial fluid, and (b) AFM probe was coated by synovial fluid

2.3 통계분석

활액이 연골 마찰계수들에 미치는 통계적인 차이를 조사하기 위하여 일원변량분석(one-way ANOVA with repeated measures)을 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 수행하였다. 사후검증은 본페로니 보정법(Bonferroni adjustments)를 사용하였다.

3. 실험결과

Fig. 4 는 AFM 으로부터 측정된 128 초 동안 128 번의 스캔 라인(1 초당 1 라인 스캔)에서 각 스캔 라인을 평균한 값을 나타내고, 이는 각 스캔 라인마다의 연골의 마찰 거동 변동량을 의미한다. 마이크로-스케일에서 AFM 을 이용한 연골 마찰계

수는 수직 하중(10-50 nN 의 범위)과 마찰력(1-10 nN 의 범위) 그래프의 직선 기울기로부터 구하였다. 이렇게 구한 연골 마찰계수는 활액을 AFM 프로브에 코팅하지 않았을 때 0.177 ± 0.012 의 값으로부터, 활액을 AFM 프로브에 코팅하였을 때 0.130 ± 0.010 의 값으로 아주 많이 감소하였다 ($p=0.0088$) (Fig. 5). AFM 구형 프로브에서 발생하는 유체동역학적 항력(hydrodynamic drag force)이 본 연구의 마찰계수 측정에 영향을 미치는 지를 파악하기 위하여서, Reynolds 수가 작기 때문에, $Re = \rho VD/\eta \approx 10^{-3} \ll 1$ ($\rho = 1000 \text{ kg/m}^3$, $V=200 \mu\text{m/s}$, $D=5 \mu\text{m}$, $\eta=10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$), 층류 흐름(laminar flow)에 대한 구형 프로브의 Stokes 해석값을 계산하였다. 이 방법을 사용하여서 계산한 유체동역학적 항력, $F = 6\pi\eta (D/2)V \approx 0.009 \text{ nN}$ 은 아주 작은 값으로 무시할 수 있음을 알 수 있다.

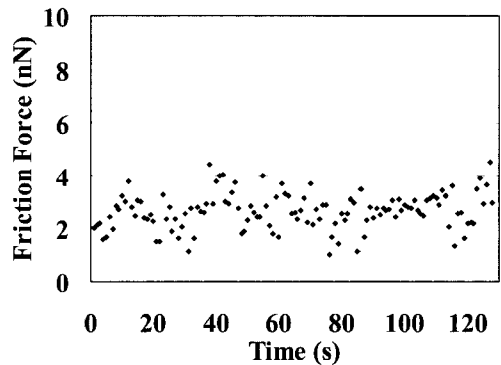


Fig. 4 Typical variation in the frictional force measured from AFM over 128 consecutive raster scans covering a 128×128 pixel ($100 \times 100 \mu\text{m}^2$) region. Each data point represents the average friction force over the scan and rescan of a 128 pixel ($100 \mu\text{m}$) line

4. 토의 및 결론

본 연구는 인체 관절 내부의 관절낭(joint capsule)을 덮고 있는 얇은 막인 활막(synovial membrane)에서 연골 표면에 도포되는 활액이 관절 내부의 뼈와 뼈 사이에서 베어링 역할을 수행하는 연골의 마찰 및 윤활 특성에 어떤 영향을 미치는 지를 마이크로-스케일에서 AFM 을 사용하여서 조사하였다. 또, 마찰특성에 대한 정량화된 비교 검토를 위해서, 활액을 AFM probe 에 코팅했을 때와

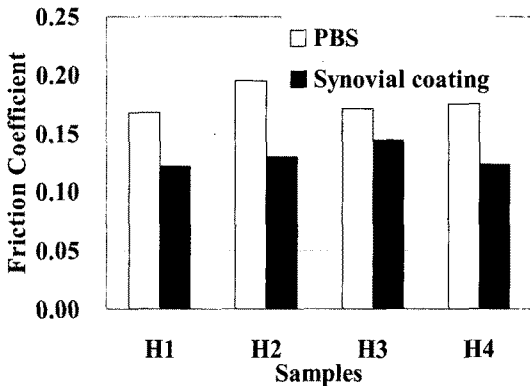


Fig. 5 Micro-scale AFM friction coefficients in PBS with and without synovial fluid coating on AFM probe

코팅하지 않았을 때 PBS 용액 속에서 마찰 특성을 대표하는 마찰계수를 측정하였다. 본 연구에서 AFM 을 이용한 마이크로-스케일에서의 마찰계수는 활액을 AFM 프로브에 코팅했을 때가 하지 않았을 때보다, 그 값이 ~0.177 에서 ~0.130 으로 ~27 % 감소함을 알 수 있고 (Fig. 5), 이 실험결과 는 연골이 하중 지지, 회전 운동, 슬라이딩 운동을 감당하는 베어링 역할을 수행하는데, 활액이 표면 윤활제로서 커다란 역할을 하고 있음을 의미한다. 매크로-스케일에서 연골의 마찰 거동은, 연골에 가해지는 외부 하중을 지지하는 마찰 거동 초기에는 연골 내부 유체가 대부분의 외부 하중을 지지 하기 때문에, 마찰계수가 아주 작은 값을 가지지만, 시간이 지날수록 연골 내부 유체의 외부 하중 지지량이 감소해서 마찰계수가 증가하고, 마찰계수는 평형 상태에 도달하게 된다. 따라서, 연골의 마찰계수는 연골 내부 유체가 변수로서 작용하기 때문에, 활액이 연골의 마찰특성에 미치는 영향을 파악하는데 어려움을 준다.^{3,4,7} 하지만, AFM 을 이용한 마이크로-스케일에서의 연골 마찰계수는 매크로-스케일에서 평형상태에 도달한 마찰계수 값에 상응하기 때문에,⁷ 연골 내부 유체의 영향을 배제하고 활액의 영향만을 고려한 마찰계수를 파악할 수 있다. 또, 마찰 계수가 평형 상태에 도달 하는 시간에 대한 지표로서 바이패식 이론 (biphasic theory)에 근거한 특성 시상수(characteristic time constant, τ)를 사용하는데,³¹ 이 특성 시상수, $\tau = a^2/H_A k$ (a =시편의 반지름, H_A =aggregate modulus, k =hydraulic permeability)는 연골의 유체 부분이 연골에 가해지는 하중을 지지하는 양이 급격히 감소 해서 연골 내부의 고체 부분이 외부 하중의 대부

분을 지지할 때까지 걸리는 시간을 지표로 의미한다.^{5,32,33} 매크로-스케일에서는, 기존 연구에서^{7,26} 보고된 대표적인 송아지 연골 재료 특성치($a=2.39$ mm, $H_A=13$ MPa, $k=0.6 \times 10^{-15}$ m⁴/N.s)를 이용하여서 계산한 연골 시편의 특성 시상수는 ~730 초이다. 하지만, 본 연구의 AFM 을 이용한 마이크로-스케일에서는, 특성 시상수, $\tau = a^2/H_A k \approx 0.0008$ 초 ($a=0.0025$ mm, $H_A=13$ MPa, $k=0.6 \times 10^{-15}$ m⁴/N.s)의 값을 가져서, 연골 시편의 마찰계수가 평형상태까지 도달하는 시간이 아주 작음을 알 수 있다.

실제 관절에서 가해지는 하중 조건은 마찰계수가 평형상태에 도달시키지는 못할 것이라고 예측된다. 그 이유는 대부분의 경우 인체 내부 관절의 서로 마주보는 두 연골은 관절에 가해지는 외부 하중을 지지하면서, 회전운동과 슬라이딩 운동을 동시에 수행하기 때문에, 두 연골의 접촉점이 계속 이동하게 된다. 이 두 연골이 접촉하는 점의 이동은 바로 연골 내부 유체가 연골에 가해지는 외부 하중을 언제나 대부분 지지할 수 있는 조건을 형성해서, 연골 마찰계수가 작은 값을 유지할 수 있게 한다. 또 다른 이유는 실제 관절 내부 연골에서는 서로 마주보는 두 연골의 접촉 면적이 4 cm²에 해당해서 $a \approx 11$ mm의 값을 가진다. 따라서, 특성 시상수, $\tau = a^2/H_A k \approx 4.5$ 시간($a=11$ mm, $H_A=13$ MPa, $k=0.6 \times 10^{-15}$ m⁴/N.s)의 큰 값을 가지기 때문에 평형상태에 도달하는데 많은 시간이 걸리고, 인체 내부 관절에 이렇게 긴 시간 동안 하중이 계속 가해지는 운동 조건은 그렇게 많지 않다. 하지만, 본 연구의 마이크로-스케일에서 AFM 을 사용한 마찰계수 측정은 연골 내부 유체의 영향을 배제한 고체만의 고유한(intrinsic) 성질을 얻을 수 있으므로, 본 연구에서 사용한 활액뿐만 아니라, 연골이나 활액의 구성성분들(i.e. lubricin, superficial zone protein, phospholipids, hyaluronan, etc.)이 연골의 표면 윤활제로 작용하는 영향을 파악하는데 이상적으로 사용될 수 있다. 이와 같이, 연골의 마찰 및 윤활 특성을 조사하는데, 연골 내부 유체의 영향과 표면윤활제의 영향을 독립적으로 고려하는 것이 기초 과학적인 측면이나 환자 치료 측면에서 아주 중요하다. 그 이유는 마찰 및 윤활작용의 결합으로 인한 관절염 환자의 치료법을 개발하거나 대체 연골을 개발할 때, 대체 연골의 조직 개선을 통하여 연골 내부 유체가 보다 큰 하중 지지를 할 수 있도록 하는데 초점을 맞추거나 또는 이상적인 표면윤활제를 개발하여서 연골 표면의 마찰 및 윤활

작용을 향상시키는데 각기 따로 초점을 맞출 수가 있기 때문이다.

본 연구에서는 AFM 마찰시험을 위하여 원기둥 모양의 연골 샘플을 관절에 붙어 있는 연골로부터 채취하여 사용하였기 때문에, swelling 현상으로 인하여, PBS 와 단백질 분해방지제 용액 속의 연골 샘플의 마이크로-스케일 표면 특성과 관절에 붙어있는 연골의 특성이 서로 차이가 날 수가 있다. 이는 AFM 장비를 사용하여서 마찰 특성을 파악하고자 할 때, 피할 수 없는 제약 조건이다.

끝으로, 본 연구는 기존에 아직까지 연구되지 않은 마이크로-스케일에서 AFM 장비를 이용하여 연골 내부 유체의 영향에 간섭을 받지 않고, 연골 표면에 도포되는 활액이 표면윤활제로서 연골의 마찰 및 윤활 특성을 향상시키는데 커다란 역할을 감당한다는 실험 결과를 제공한다. 또한, 향후 다양한 표면윤활제들이 연골의 마찰 및 윤활 특성에 미치는 영향을 조사할 때에, 연골 내부 유체의 영향과 독립적으로 조사할 수 있음을 의미하고, 이러한 조사는 이들이 연골 윤활작용에 미치는 원리를 파악하는데 많은 도움을 줄 수 있다.

후 기

이 논문은 2007 년도 정부재원(교육인적자원부 학술연구조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음(KRF-2007-331-D00593).

참고문헌

1. McCutchen, C. W., "The frictional properties of animal joints," *Wear*, Vol. 5, No. 1, pp. 1-17, 1962.
2. Ateshian, G. A., Wang, H. Q. and Lai, W. M., "The role of interstitial fluid pressurization and surface porosities on the boundary friction of articular cartilage," *Journal of Tribology-Transactions of the ASME*, Vol. 120, No. 2, pp. 241-248, 1998.
3. Krishnan, R., Kopacz, M. and Ateshian, G., "Experimental verification of the role of interstitial fluid pressurization in cartilage lubrication," *J. of Orthopaedic Research*, Vol. 22, No. 3, pp. 565-570, 2004.
4. Park, S., Krishnan, R., Nicoll, S. B. and Ateshian, G. A., "Cartilage interstitial fluid load support in unconfined compression," *J. Biomech*, Vol. 36, No. 12, pp. 1785-1796, 2003.
5. Ateshian, G. A., Lai, W. M., Zhu, W. B. and Mow, V. C., "An asymptotic solution for the contact of two biphasic cartilage layers," *J. Biomech*, Vol. 27, No. 11, pp. 1347-1360, 1994.
6. Ko, J. H., Son, K., Park, J. H. and Suh, J. T., "Gait study on the normal and acl deficient patients after ligament reconstruction surgery using chaos analysis method," *J. of KSPE*, Vol. 23, No. 2, pp. 164-171, 2006.
7. Park, S., Costa, K. D. and Ateshian, G. A., "Microscale frictional response of bovine articular cartilage from atomic force microscopy," *J. Biomech*, Vol. 37, No. 11, pp. 1679-87, 2004.
8. Charnley, J., "The lubrication of animal joints in relation to surgical reconstruction by arthroplasty," *Ann Rheum Dis*, Vol. 19, No. 1, pp. 10-19, 1960.
9. Hills, B. A., "Boundary lubrication in vivo," *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers Part H-Journal of Engineering in Medicine*, Vol. 214, No. H1, pp. 83-94, 2000.
10. Linn, F. C. and Radin, E. L., "Lubrication of animal joints. 3. The effect of certain chemical alterations of the cartilage and lubricant," *Arthritis Rheum*, Vol. 11, No. 5, pp. 674-682, 1968.
11. Swann, D. A., Silver, F. H., Slayter, H. S., Stafford, W. and Shore, E., "The molecular structure and lubricating activity of lubricin isolated from bovine and human synovial fluids," *J. Biochem*, Vol. 225, No. 1, pp. 195-201, 1985.
12. Jay, G. D., Tantravahi, U., Britt, D. E., Barrach, H. J. and Cha, C. J., "Homology of lubricin and superficial zone protein (szp): Products of megakaryocyte stimulating factor (msf) gene expression by human synovial fibroblasts and articular chondrocytes localized to chromosome 1q25," *J. of Orthopaedic Research*, Vol. 19, No. 4, pp. 677-687, 2001.
13. Radin, E. L. and Paul, I. L., "A consolidated concept of joint lubrication," *J. Bone and Joint Surgery*, Vol. 54, No. 3, pp. 607-613, 1972.
14. Schwarz, I. M. and Hills, B. A., "Surface-active phospholipid as the lubricating component of lubricin," *British Journal of Rheumatology*, Vol. 37, No. 1, pp. 21-26, 1998.
15. Maroudas, A., "Hyaluronic acid films," *Proc.*

- IMechE, Vol. 181, pp. 122-124, 1967.
16. Mabuchi, K., Obara, T., Ikegami, K., Yamaguchi, T. and Kanayama, T., "Molecular weight independence of the effect of additive hyaluronic acid on the lubricating characteristics in synovial joints with experimental deterioration," *Clin Biomech (Bristol, Avon)*, Vol. 14, No. 5, pp. 352-356, 1999.
 17. Bhushan, B., "Micro/nanotechnology using atomic force microscopy/friction force microscopy: State of the art," *Proc. Instn. Mech. Engrs.*, Vol. 212(J), pp. 1-18, 1995.
 18. Kumar, P., Oka, M., Toguchida, J., Kobayashi, M., Uchida, E., Nakamura, T. and Tanaka, K., "Role of uppermost superficial surface layer of articular cartilage in the lubrication mechanism of joints," *J. Anatomy*, Vol. 199, No. 3, pp. 241-250, 2001.
 19. Bhushan, B. and Koinkar, V. N., "Nanoscale boundary lubrication studies using afm/ffm," *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, Vol. 212, pp. 239-Poly, 1996.
 20. Du, B. Y., VanLandingham, M. R., Zhang, Q. L. and He, T. B., "Direct measurement of plowing friction and wear of a polymer thin film using the atomic force microscope," *Journal of Materials Research*, Vol. 16, No. 5, pp. 1487-1492, 2001.
 21. Lin, D. C., Dimitriadis, E. K. and Horkay, F., "Robust strategies for automated afm force curve analysis--i. Non-adhesive indentation of soft, inhomogeneous materials," *J. Biomech Eng*, Vol. 129, No. 3, pp. 430-440, 2007.
 22. Habelitz, S., Marshall, S. J., Marshall, G. W., Jr. and Balooch, M., "The functional width of the dentino-enamel junction determined by afm-based nanoscratching," *J. Structural Biology*, Vol. 135, No. 3, pp. 294-301, 2001.
 23. Kim, S. H., Marmo, C. and Somorjai, G. A., "Friction studies of hydrogel contact lenses using afm: Non-crosslinked polymers of low friction at the surface," *Biomaterials*, Vol. 22, No. 24, pp. 3285-94, 2001.
 24. McMullen, R. L. and Kelty, S. P., "Investigation of human hair fibers using lateral force microscopy," *Scanning*, Vol. 23, No. 5, pp. 337-45, 2001.
 25. Grant, L. M. and Tiberg, F., "Normal and lateral forces between lipid covered solids in solution: Correlation with layer packing and structure," *Biophysical Journal*, Vol. 82, No. 3, pp. 1373-85, 2002.
 26. Soltz, M. A. and Ateshian, G. A., "A conewise linear elasticity mixture model for the analysis of tension-compression nonlinearity in articular cartilage," *J. Biomech Eng*, Vol. 122, No. 6, pp. 576-86, 2000.
 27. Suh, N. P. and Sin, H. C., "The genesis of friction," *Wear*, Vol. 69, No. 1, pp. 91-114, 1981.
 28. Bhushan, B., "Handbook of micro/nanotribology," Boca Raton CRC Press, pp. 15-53, 1995.
 29. Meyer, G. and Amer, N. M., "Simultaneous measurement of lateral and normal forces with an optical-beam-deflection atomic force microscope," *Applied Physics Letters*, Vol. 57, No. 20, pp. 2089-2091, 1990.
 30. Ruan, J. A. and Bhushan, B., "Atomic-scale friction measurements using friction force microscopy: Part 1--General principles and new measurement techniques," *Journal of Tribology-Transactions of the ASME*, Vol. 116, No. 2, pp. 378-388, 1994.
 31. Mow, V. C., Kuei, S. C., Lai, W. M. and Armstrong, C. G., "Biphasic creep and stress relaxation of articular cartilage in compression? Theory and experiments," *J. Biomech Eng*, Vol. 102, No. 1, pp. 73-84, 1980.
 32. Kelkar, R. and Ateshian, G. A., "Contact creep of biphasic cartilage layers," *Journal of Applied Mechanics, Transactions ASME*, Vol. 66, No. 1, pp. 137-145, 1999.
 33. Armstrong, C. G., Lai, W. M. and Mow, V. C., "An analysis of the unconfined compression of articular cartilage," *J. Biomech Eng*, Vol. 106, No. 2, pp. 165-173, 1984.