

厚生科学研究費補助金（医薬品安全総合研究事業）

分担研究報告書

医療用具の有効性・安全性評価手法の開発に関する研究

分担研究者 高久田和夫 東京医科歯科大学生体材料工学研究所 教授

研究要旨

5種類の骨プレートについて、製造時の欠陥の有無を調べるために、X線による内部欠陥の観察と実体顕微鏡による表面欠陥の観察を行った。また製造時の機械加工の影響が製品に残っているかどうかを調べるために、マイクロビッカーによる硬さ測定を行った。その結果、X線観察では内部欠陥は発見されなかった。表面観察でも明確な傷は観察されなかったが、製品によっては細かな傷や凹凸が残っているものもあった。硬さ試験においては、プレートの部位による硬さの変化が顕著であった。特にプレートの折損の好発部位であるスクリー孔側面においては、臨床的に破損事故の報告例の多い製品で硬さのばらつきが大きい傾向があり、製作時の機械加工あるいは表面仕上げに問題があるとも考えられた。

またインプラントの破壊においては金属表面の傷から破壊が開始すると考えられ、整形外科インプラントでは使用時のごく小さな傷も禁忌とされている。工業用製品でも事情は同じであるが、機械の組み立てなどで小さな傷がつけられること問題になっておらず、著しい相違である。このことは、生体内で材料表面のごく小さな傷から損傷が開始する機構があることを示唆している。そこで金属板に傷をつけ、その上でラット腹腔内マクロファージを培養する実験を行った結果、傷の周囲に選択的にマクロファージが集合する傾向を示すことが分かった。このことは、生体内では材料の傷をマクロファージが認識し、ラジカルなどを放出することにより損傷を加速するという機構により、材料の劣化が促進される可能性を示唆するものである。

A. 研究目的

整形外科インプラントの中でも骨固定具は特に事故例が多く報告されている製品である。このような骨固定具の力学的安全性を保証するには、たかだか60症例程度と数が少なく、力学的条件も不明確な治験では不十分である。実験条件を規定でき、インプラントの破損状況を詳細に解析することのできる前臨床試験を厳密に行うことが、安全性を高める唯一の方法と考えられる。そこで本研究では、骨固定具の前臨床試験について基礎的な検討を行った。

B. 研究方法

(1) 獣医用の整形外科インプラントである骨プレートとして粗悪とされるものから最高級とされるものまでの代表的な4種類を選択した。具体的には、

- ① プロミクロス
- ② キリカン
- ③ ミズホ医科工業
- ④ ペロー

である。このうち、①が粗悪品、④が最高級品として

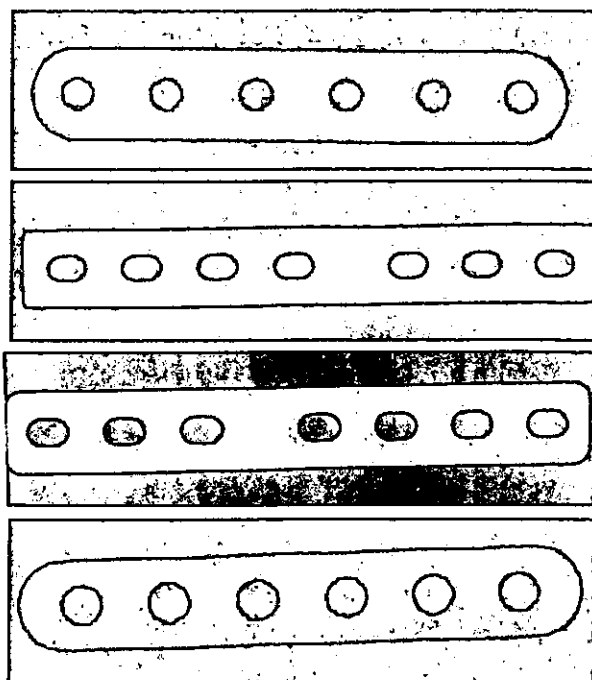


図1 骨プレートのX線写真
(上からプロミクロス、キリカン、ミズホ、ペロー)

評価が定まっているものである。②、③の製品については、使用する獣医師により良し悪しの評価が様々であり、必ずしも一致した評価を得ていない。品質的には中位のものと考えられる製品である。

(2) 4種類の骨プレートについて、X線による内部欠陥の観察と実体顕微鏡による表面欠陥の観察を行った。

(3) 同じく4種類の骨プレートについて、マイクロビッカース硬さ試験によりプレート表面の部位別の硬さ分布を調べた。このとき、骨プレートのスクリー孔付近について、孔外部のプレート横断方向、孔の側面縦方向、孔間を連結する縦方向の3箇所について、硬さの分布を調べた。

(4) 金属試料で表面の傷が生体側から攻撃される可能性について検討した。試験片には材質がSUS316LまたはCP Tiで、大きさが5.0 x 5.0 x 0.1mmの試料を用いた。金属試料は0.05 μ mのアルミナ粒子で研磨後、鋭利な鋼製ナイフにて傷をつけ、オートクレイブにて滅菌した。細胞にはラット腹腔内に流動パラフィンを注入し誘導された初代マクロファージを用いた。培地にはMEM (10%FBS, テトラサイクリン 5mg/mL添加)を用いた。培養実験では、 $7.5 \times 10^5 \sim 9.5 \times 10^5$ 個/mlの細胞を含む培養液 2mlを金属試料を静置した培養ディッシュ(35mm)に分注し、37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂の条件でインキュベータにて培養し、培養日数1~7日間にて試験片表面の細胞を蛍光染色して共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。

C. 研究結果

(1) 図1に骨プレートのX線観察結果の例を示す。X線観察では内部欠陥は発見されなかった。図2に骨プレートの実体顕微鏡観察の例を示す。表面観察でも明確な傷は観察されなかったが、プロミクロス製品では細かな凹凸が表面全体にわたり観察され、キリカン製品では細かな傷が観察された。しかしペロー製品では凹凸や傷は非常に少なかった。

(2) 硬さ試験においては、図3に示すような3部位について硬さを計測した。図4-1, 2, 3, 4にそれぞれの製品の硬さ分布の測定例を示す。プレートの部位による硬さの変化は顕著であり、特にプレートの折損の好発部位であるスクリー孔側面(②)については、臨床的に破損事故の報告例の多いと評価されているプロミクロス製品で最大硬さ450に対し最小硬さ210と倍以上の変化があるなど、硬さのばらつきが大きい傾向がある。しかし臨床的に評価の高いペロー製品では、最大硬さ360に対し最小硬さ230と1.5倍程度にとどまっていた。

(3) 傷をつけた金属試験片上でラット腹腔内マクロファージを培養する実験を行った場合について、図5に傷と細胞の位置関係を示す。金属表面の傷の周囲に選択的にマクロファージが集合していることが分かる。

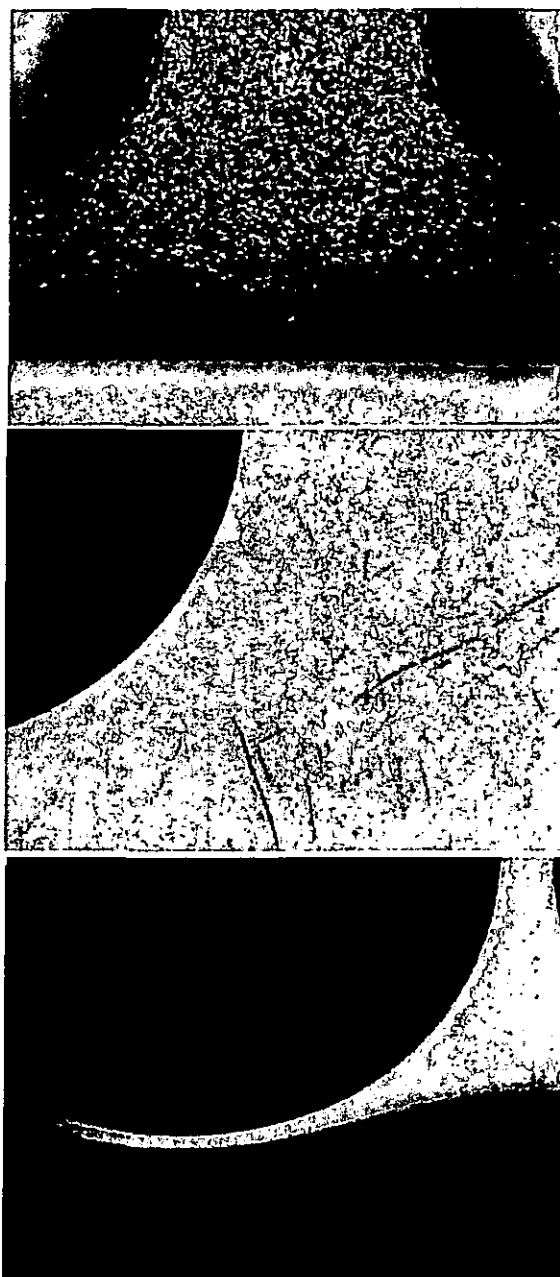


図2 骨プレート表面の実体顕微鏡写真
(上からプロミクロス, キリカン, ペロー)

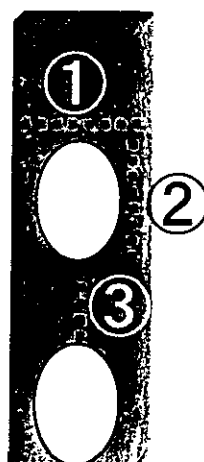


図3 骨プレート表面の硬さ
測定部位

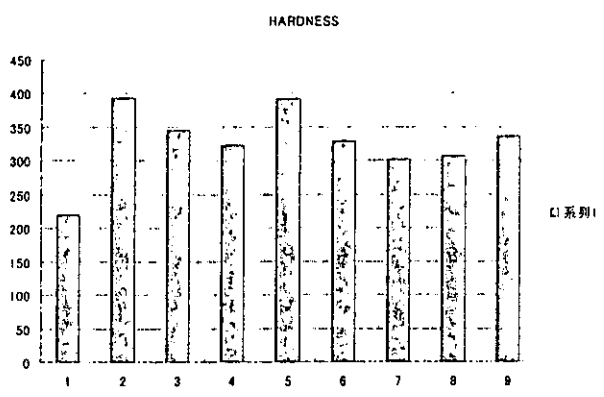
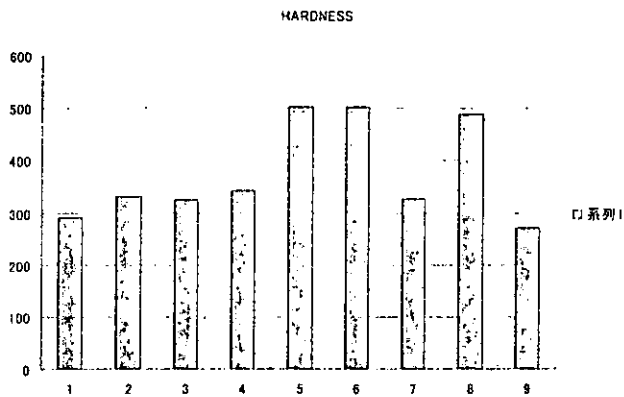
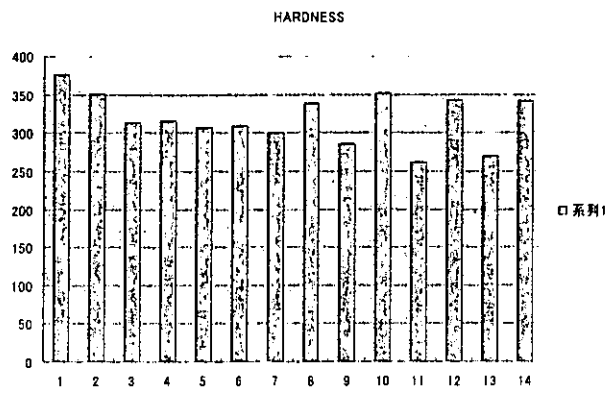
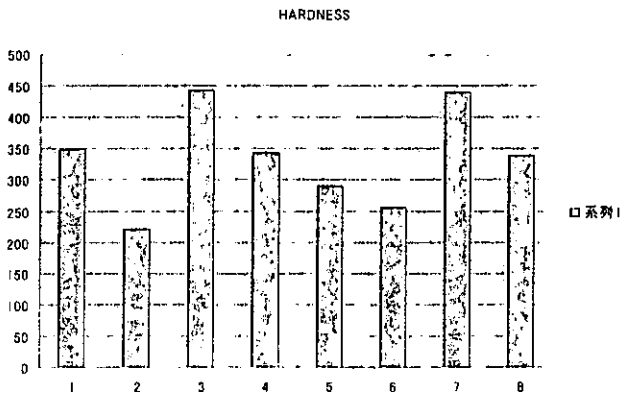
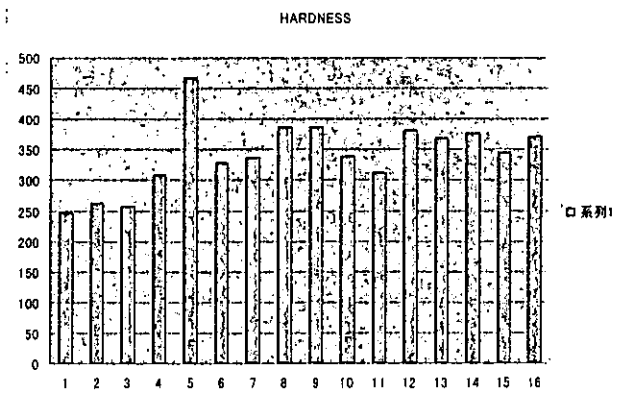
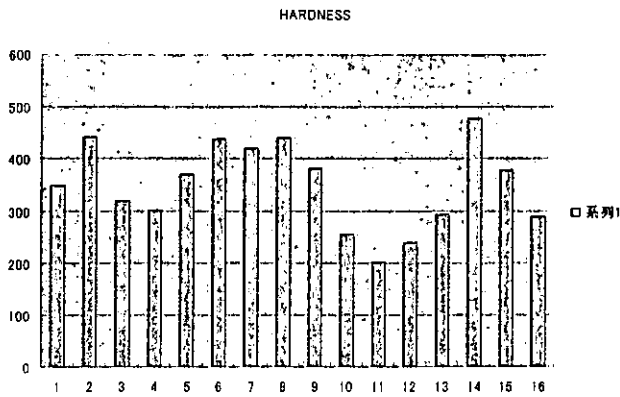


図4-1 骨プレート表面の硬さ分布
(プロミクロス, 上から図3①, ②, ③上の分布)

図4-2 骨プレート表面の硬さ分布
(キリカン, 上から図3①, ②, ③上の分布)

また図6に画像処理により細胞の占める面積を測定し、傷から距離で整理した結果を示す。培養時間の経過とともに傷周囲にマクロファージが集合していることが明らかである。

D. 考察

(1) X線観察では製品内の欠陥は観察されなかった。骨プレートの製造過程では、原材料を供給する鉄鋼メーカー厚板を購入し、切断、孔あけ、研磨、熱処理といった工程で製品が製造されることから、材料内部に顕著な材料欠陥が残っているとは考え難い。実験結果で、粗悪品、最高級品の区別なく内部欠陥がないことは、このような製造工程と整合的である。

(2) 一方、表面の実体顕微鏡観察では、粗悪品では表面に顕著な凹凸が残っていたが、最高級品では表面は極めて滑沢であった。中級品では多少の傷が観察された。骨プレートの疲労破壊や腐食疲労では、表面の傷から破壊が進展すると考えられることから、表面の仕上げの程度が、製品の耐久性に影響を与えることが考えられる。したがって、表面の凹凸や傷の程度は製品を評価する上で重要な因子になるとも考えられる。

(3) 硬さ試験においては、プレートの部位による硬さの変化が顕著であった。特にプレートの折損の好発部位であるスクリー孔側面においては、臨床的に破壊事故の報告例の多い製品で硬さのばらつきが大きい傾向があった。硬さの変化は、素材から材料を切り出す

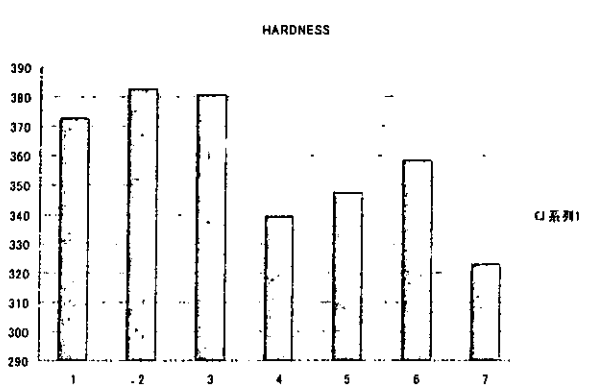
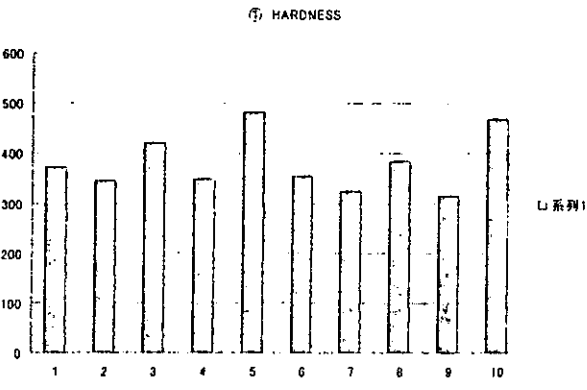
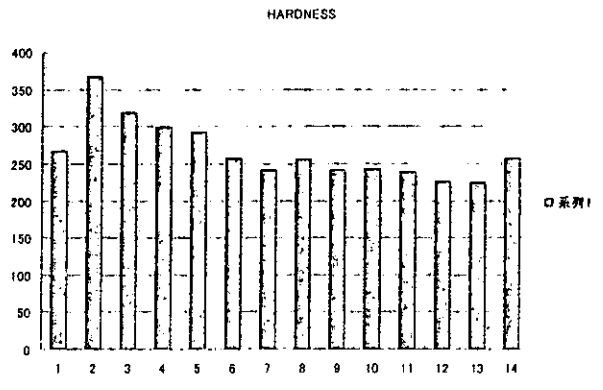
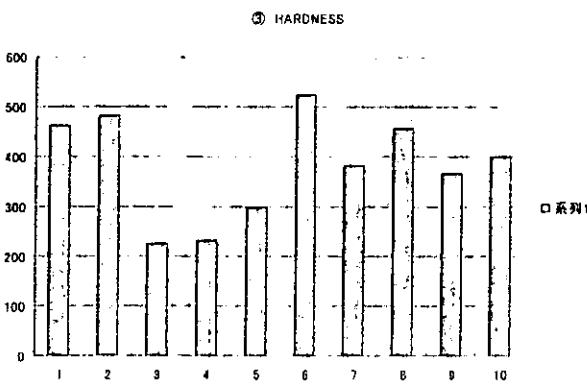
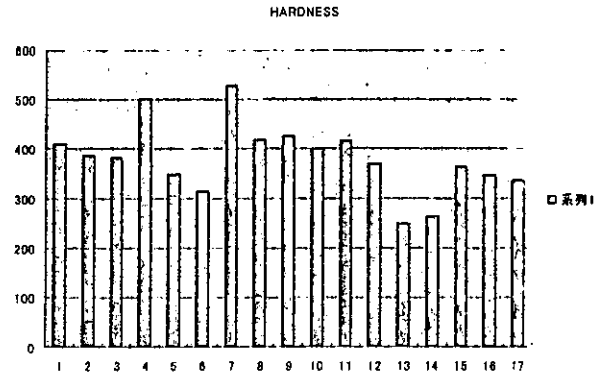
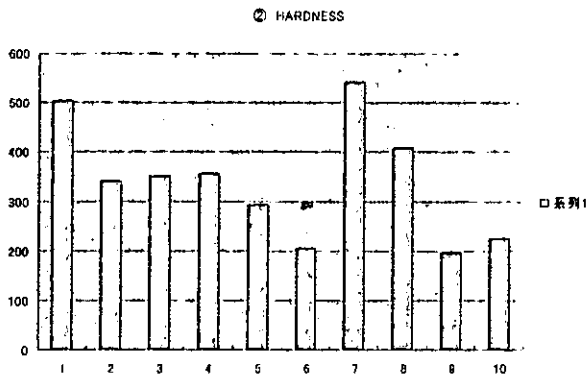


図4-3 骨プレート表面の硬さ分布
(ミズホ, 上から図3①, ②, ③上の分布)

図4-4 骨プレート表面の硬さ分布
(ペロー, 上から図3①, ②, ③上の分布)

際の機械加工,あるいはスクリー孔をドリルにより開ける際の残留ひずみに起因すると考えられる。このような残留ひずみの存在は材料の耐久性を低下させる不都合な内部応力の存在を示唆しており,製作時の機械加工,表面仕上げ,あるいは熱処理の過程における微妙な差異が,このような硬さのばらつきの差異として現れており,このばらつきの小さい製品の方が耐久性に優れている可能性があるとも考えられた。

(4) インプラントの破壊においては金属表面の傷から破壊が開始すると考えられ,整形外科インプラントでは使用時のごく小さな傷も禁忌とされている。工業用製品でも事情は同じであるが,機械の組み立てなどで小さな傷がつけられること問題になっておらず,著し

い相違である。このことは,生体内で材料表面のごく小さな傷から損傷が開始する機構があることを示唆している。そこで金属板に傷をつけ,その上でラット腹腔内マクロファージを培養する実験を行った結果,傷の周囲に選択的にマクロファージが集合する傾向を示すことが分かった。マクロファージは生体防御機構の一部を担いラジカルなどを放出し細菌などを殺す能力を持っている。ラジカルは材料にも作用し,材料腐食を著しく加速する。したがって本実験結果によって,生体内で材料の傷をマクロファージが認識し,ラジカルなどを放出することにより材料の損傷を加速する可能性が示唆された。マクロファージが材料の傷を認識する機構は不明であるが,材料からの金属イオンによるケモタクシスや細胞接着などを介した機構が想定で



図5 金属試験片上のマクロファージの分布
(矢印部が試料につけた傷の部位)

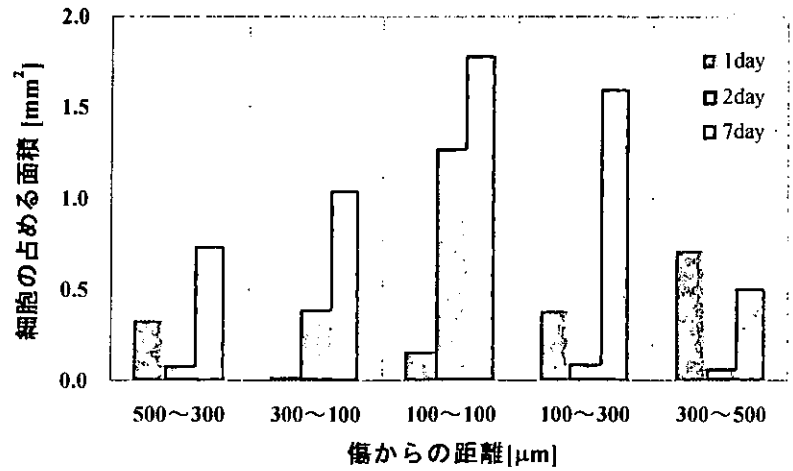


図6 傷周囲における細胞の分布

できる。

E. 結論

最終的な結論はまだ得られていないが、整形外科インプラントの力学的安全性の評価にあたっての問題点を明確にすることができた。

F. 健康危険情報

特に無し。

G. 研究発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

なし。

7. 人工関節の力学・組織評価法開発

馬淵清資

分担研究項目 人工関節の力学的，組織学的研究

分担研究者 馬淵清資 北里大学医療衛生学部教授

研究要旨 人工関節の深刻な合併症のひとつである固定部分に発生する緩みを防ぐには，適切な固定機構の構築が不可欠である。本分担研究課題においては，固定部分の接触圧力分布の安定性を尺度とした評価法および評価の尺度を考案し，ガイドラインとして提案することを目的とする。平成 15 年度においては，市販されているいくつかの人工股関節システムについて，タクタイルセンサによるリアルタイム応力測定を行った。

A. 研究目的

人工関節の初期固定に限定した場合の評価基準として一般の研究者が考えているのは，(1) 人工材料と骨組織を可能な限り広い接触範囲で固定する，(2) 接触応力をできるだけ小さく均一にするというものである。たとえば，接触面積の広さについては，髓腔占拠率といった尺度が用いられる。髓腔占拠率は，骨髄腔の形状と人工関節の形状の一致の割合であり，これを高めることにより，広い接触面積を得られるので，望ましいと考える。また，応力の均一を求める際は，有限要素法などの理論応力解析により，その度合いを評価する方法が採られる。

こうした評価基準は，固定部分の接着，あるいは，人工材料と骨組織の一体化という考え方に基礎を置いている。しかし，人工関節には，体重の数倍にも及ぶ大きな荷重が負荷される。工学的な一般論からは，接着は低荷重における固定方法であり，高い荷重を支えるためには，ねじ，リベット，釘などの締結要素が用いられる。もちろん，溶融接合や化学反応は，接合する材料の性質が類似している場合のみに用いられるので，人工関節では採用できない。どんなに生体親和性の高い表

面でも，一体化するものではない。骨セメントを用いる場合でも，接着の能力はなく，あくまでもスペーサとして機能する。こうした観点から，人工関節の固定を構造力学の問題として捉え直す必要がある。

二つの固体の接触問題を考える場合，3点固定で代表されるように，安定な固定を得るための接触点の数は，多すぎると不安定になることが知られている。また，その固定部分が広い範囲に分布することが必要である。この考え方を延長すると，固定力を伝える接触領域の広さではなく，適切な部位に荷重が伝えられているか否かを評価する必要があることがわかる。すなわち，接触応力の分布を求めて，高応力の範囲がどこに存在するかを議論しなければならない。そこで，本研究課題においては，荷重試験による接触圧力分布測定により，いろいろな接触状態にある人工関節と骨組織の界面の応力分布を求め，その時間的変動を解析することを目的とした。

本年度においては，本年度予算により購入したタクタイルセンサ (I-SCAN, ニッタ (株)) を用いて，市販されているいくつかの種類の人股関節システムの設置部分の接触圧力分布の測定を行った。

B. 研究方法

各種人工股関節ステムの固定部周囲に発生する接触応力を実験計測によって求めた。固定部分の形状設計の異なる4種類の人工股関節ステムを対象とした(図1)。はじめに感圧フィルム(プレスケール, 富士写真フィルム(株))を使用し骨-ステム間における高い応力部位を特定した。次に特定部位について詳細な応力変動を調べるため, 応力分布測定システムにより経時的な接触応力の変化を測定した。応力分布測定システムは, 厚さ0.1 mmのシートに44×44個の荷重センサが配置されているタクタイルセンサシートとセンサコネクタ(図2), PCIインターフェイスボード, ハードウェア, ソフトウェアにより構築した。ハードウェアとして計測制御用コンピュータ(PC-STATION, CPU 700MHz, SOTEC(株)), ソフトウェアとしてI-SCAN専用ソフトウェア(ニッタ(株))を用いた。タクタイルセンサシートを模擬大腿骨とステム間に装着し, 人工股関節安定性試験器により応力分布の変動を定量的に求めた。両面から加えられる力により, 感圧導電性インクが押し付けられ電気抵抗が変化することにより点荷重分布が得られ, それをソフトウェアで補間することに

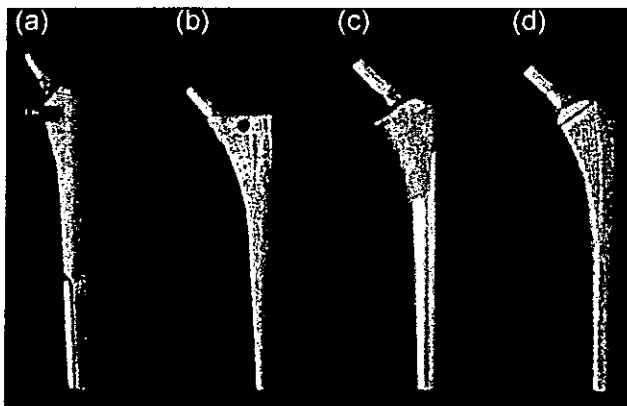


図1 測定対象とした人工股関節ステム
(a) IMC stem[®] (Kyocera), (b) Versys[®] (Zimmer),
(c) PERFIXSV[®] (Kyocera), (d) SUPER SECUR-FIT[®]
(Strvker)

より, 応力分布がリアルタイムにモニタできる。

人工股関節安定性試験器は, 空気圧式コンプレッサー, 荷重を大腿骨頭に伝えるシリンダー, 圧力を測定する圧力ゲージ, 模擬大腿骨を固定する支持部により構成した。模擬大腿骨は表面が硬質材料, 内部が海綿構造からなる力学的性質の類似している人工骨 (Form cortical shell, SEWBONE Co.) を掘削し, 即時重合レジン (オストロン, ジーシーデンタルプロダクツ(株)) を断面に塗布することで, システムの外形状と髓腔内形状を一致させた。ホースバンドを用い近位と遠位の2箇所を締め付け固定した。人工股関節安定性試験器の固定部に模擬大腿骨を挿入し, 円周方向から放射線状に4箇所, 高さ方向に3箇所, 計12箇所のネジによりスクリュー固定した。荷重は骨頭部に1500N, 60秒間負荷し, 測定は荷重負荷直後から開始した。

C. 結果

結果, IMC stem においては経時的な接触応力の変動はわずかで, システム本体部は均一な応力分布を呈した(図3 a)。一次元接触応力は全体定期的に低値を示し比較的高い応力は近位において目立った(図4 a)。Versys は荷重負荷後, 応力部位の移動は見られず, 内側と外側ともに均一な応力分布を呈した(図3 b)。一次

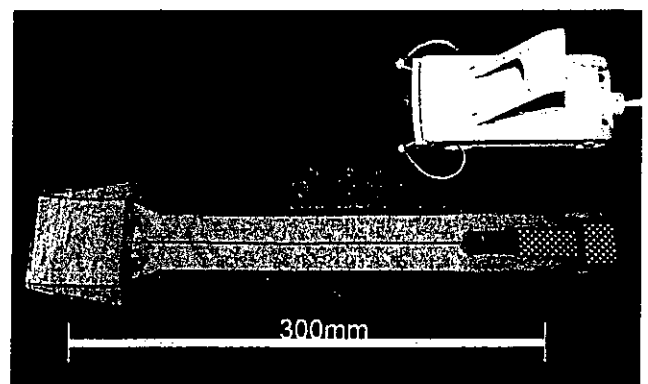


図2 タクタイルセンサ。
(a) センサコネクタ, (b) センサシート (厚さ
0.1 mm)。

元接触応力は近位において高い応力部位が 1 箇所現れた(図 4 b). PERFIX SV においては全面でフィットした人工股関節では見かけ上の広い領域での接触にもかかわらず、高い応力値を示す部分が 4 種のステムの中で最も多く偏在した(図 3 c). 一次元接触応力においても高い応力が散在しどこで固定力が得られているか不明瞭であった(図 4 c). SUPER SECUR-FIT ステムの近位外側に現れた応力はわずかな周囲条件の変化によりその値が大きく変動した(図 3 d). 一次元接触応力は外側の遠位に高い接触応力が認められた(図 4 d). ステムの近位外側および遠位内側で発生した高い値を持つ応力分布は角度変化にともないその応力部位が移動した. さらに遠位外側に高い接触応力の部位が認められた.

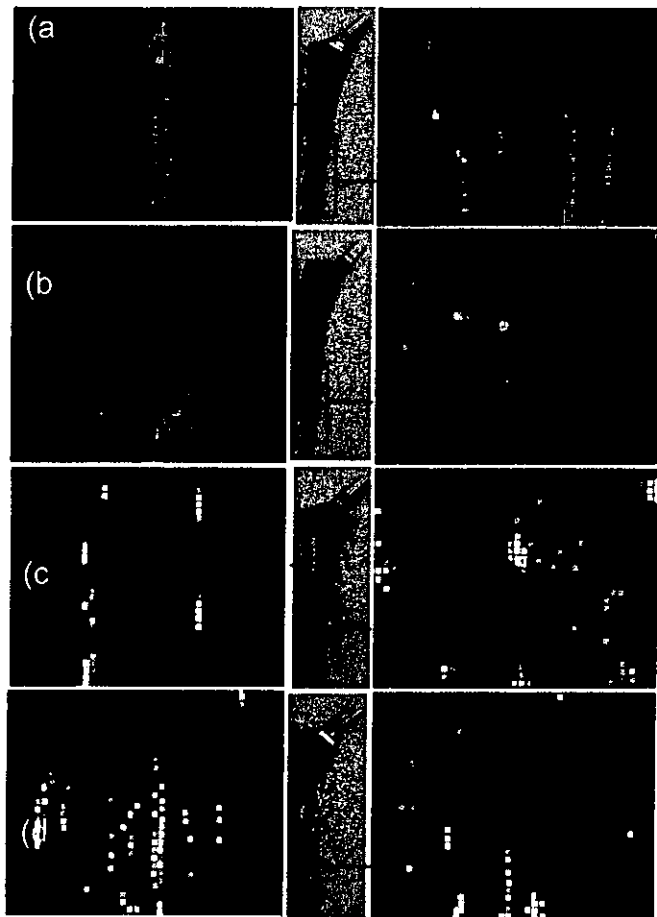


図 3. 荷重直後の二次元応力分布パターン.
(a) IMC stem. (b) Versys. (c) PERFIX SV. (d) SUPER SECUR-FIT.

D. 考察

IMC ステムにおける応力は、比較的均一な分布を呈した. ステム近位外側と遠位内側において過度の応力集中はなく、過重負荷後の応力分布の変化もわずかであった. この結果に至った要因として、横止めピンが近位における変位量を減少させたため、高い応力部位の移動が見られなかったと推測できる. すなわち、IMC ステムにおいては安定状態にあると考えた. IMC ステム横止めピン直下には大きい応力を生じる可能性がある. しかし、これまでの材料力学的実験から骨の破壊を招くような応力ではないことを確認しており、臨床上也問題は発生していない.

近位に鋭利な固定部位を設けた Versys にお

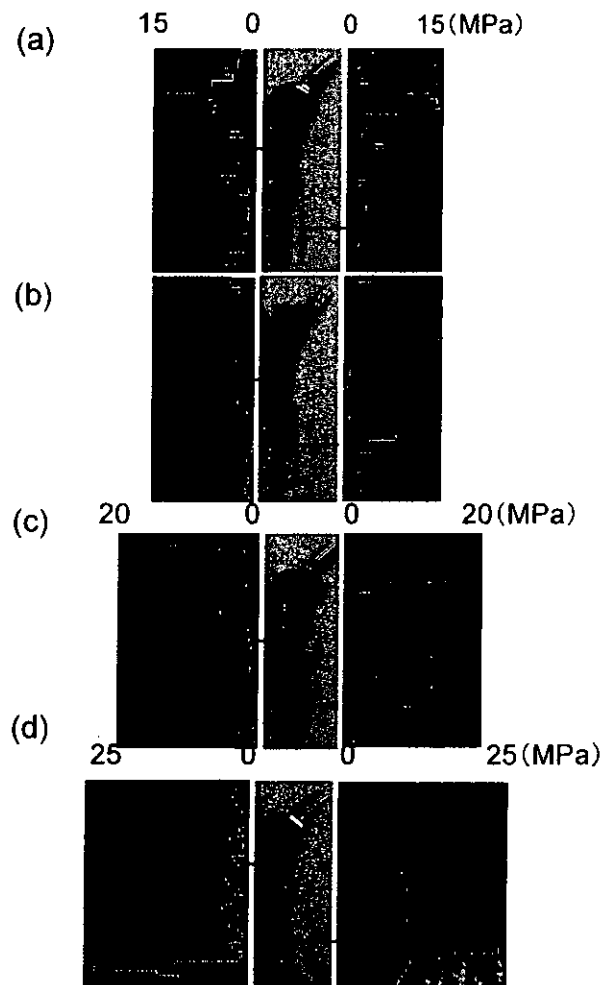


図 4. 軸方向一次元応力分布.
(a) IMC stem. (b) Versys. (c) PERFIX SV. (d) SUPER SECUR-FIT.

いても近位外側・遠位内側ともに均一な応力分布を呈した。この結果に至った要因として、放射状に4箇所設置されているフィンが大腿骨髓腔内の骨に噛み込むことで回旋安定性が増し、周囲条件の変化の際にも変位することなく安定した固定を保持できたと推測できる。

いわゆる Fit & Fill タイプあるいは press fit タイプと呼ばれる人工股関節は、骨とステムの接触面積を広げて応力分布を均一にすることが設計指針として挙げられている。しかし、本研究において示されたように、この指針をもつ PERFIX SV においてその応力分布は均一にならず、わずかな周囲条件の影響を受けることが明らかになった。

SUPER SECUR-FIT においては遠位外側に高い接触応力の部位が認められたことから遠位内側に固定力が伝達される危険性がある。これらの結果と考察から、生物学的な固定に到達する以前の初期段階においては、適切な位置に応力を集中させるという力学的な固定が望ましいことが明らかになった。そして、人工股関節ステムの固定部分の形状デザインを評価するためには、固定部分における接触応力分布の測定実験を行う必要がある。また、従来一般に信じられている均一で低応力という評価基準は、適切で流動的でない応力分布という基準に改めるべきである。

E. 結論

タクティルセンサによる接触応力測定を行い臨床で用いられている4種類の人工関節ステムを評価した。固定法の良否を判断する評価基準として応力分布のリアルタイム2次元デジタル画像が有用であることを示した。緩みを防ぐ良好な固定には、接触応力の不安定な変動を押さえるべきであること。また、力を伝えたい部位には高い接触応力が現れるべきであることが明らかになった。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Ohta M, Takura A, Mabuchi K, Shibata T: Influence of Occlusion Failure on the Lubrication Mechanism of Temporomandibular Joints. Proceedings of the 4th International Biotribology Forum, Fukuoka, 82-83, 2003.
- (2) Sakai R, Mabuchi K: Digital simulation imaging the stress distribution in joint prostheses for the assessment of fixation methods. The Journal of the Institute of Image Electric Engineers of Japan, 32(5): 709-716, 2003.
- (3) 雨尾公暁, 三科博司, 酒井利奈, 吉野 洋, 野村寛之, 馬淵清資: 圧力分布の最適化を尺度とした人工股関節固定法の評価. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 24, 293-297, 2003.
- (4) 酒井利奈, 糸満盛憲, 高平尚伸, 内山勝文, 雨尾公暁, 馬淵清資: 人工股関節における固定部接触面積に依存する応力分布のゆらぎ. 日本人工関節学会誌, 33, 155-156, 2003.
- (5) 酒井利奈, 雨尾公暁, 馬淵清資: 圧力分布の最適化を尺度とした人工股関節固定法の評価—広範囲接触と部分接触の比較—. 日本人工関節学会誌, 33, 157-158, 2003.
- (6) Mabuchi K, Ohta M, Sakai R, Ujihira M: Appropriate radial clearance of ceramic-on-ceramic total hip prostheses to realize squeeze-film lubrication. Clinical Biomechanics, in press.

2. 学会発表

- (1) 酒井利奈, 糸満盛憲, 野村寛之, 馬淵清資: ネットワーク対応医用画像を用いた 3D・FEM解析による人工股関節固定法の評価. 第 31 回 画像電子学会年次大会, 九州, 2003.6.20. (予稿集 p.135-36)
- (2) 内山勝文, 西 かおり, 長江祐吾, 氏平政伸, 馬淵清資, 糸満盛憲: マイクロ波加温処理したウシ皮質骨の力学的強度の検討. 日本機械学会 2003 年度 年次大会, 徳島, 2003.8.5-8. (発表 8.8. 講演論文集Ⅶ No.03-1, 187-188).
- (3) 馬淵清資: 関節のトライボロジ. 日本顎口腔機能学会第 31 回学術大会特別講演, 札幌, 2003.10.4. (抄録集 p.6-9).
- (4) 大田未知, 田倉明子, 馬淵清資, 柴田考典: 顎関節の潤滑メカニズムに対する咬合の影響. 日本顎口腔機能学会第 31 回学術大会, 札幌, 2003.10.4. (抄録集 p.22-23).
- (5) 内山勝文, 高平尚伸, 糸満盛憲, 氏平政伸, 長江祐吾, 西かおり, 馬淵清資, 柿沼祐子, 井上松久: 第 30 回臨床バイオメカニクス学会, 宇部, 2003.11.27-28. 講演 27 (抄録集 p.65).
- (6) 大田未知, 馬淵清資, 田倉明子, 柴田考典: 摩擦測定によるブタ顎関節の咬合適合性評価. 第 30 回臨床バイオメカニクス学会, 宇部, 2003.11.27-28. 講演 27 (抄録集 p.121).
- (7) 酒井利奈, 糸満盛憲, 野村寛之, 恵良優子, 馬淵清資: 股関節ステム固定部接触応力の感圧フィルムによる測定と三次元有限要素法解析. 第 30 回臨床バイオメカニクス学会, 宇部, 2003.11.27-28. 講演 28 (抄録集 p.179).
- (8) 馬淵清資: 人工関節の力学・組織評価方法開発. 医薬品等医療技術リスク評価研究事業「医療用具の有効性・安全性評価手法の開発に関する研究」成果報告部会, 東京, 2003.12.26.
- (9) 酒井利奈, 糸満盛憲, 野村寛之, 恵良優子, 馬淵清資: 股関節ステム初期固定評価のためのタクトイルセンサを用いた応力分布測定. 第 34 回日本人工関節学会, 千葉, 2004.1.30. 講演 I・5-17 (抄録集 p.181).
- (10) 内山勝文, 高平尚伸, 酒井利奈, 馬淵清資, 高崎純孝, 山本豪明, 福島健介, 岩瀬大, 糸満盛憲: IMC ステムの短期成績—X線学的評価—. 第 34 回日本人工関節学会, 千葉, 2004.1.31. 講演Ⅱ-3-31 (抄録集 p.252).

8. 微小(バイオ)軟骨組織・動脈瘤栓塞材とステントの
力学試験・解析法開発

堤 定美

分担研究報告書

微小(バイオ)軟骨組織・動脈瘤栓塞材とステントの力学試験・解析法開発

分担研究者 堤 定美 京都大学再生医科学研究所生体機能学部門
シミュレーション医工学分野

研究要旨：

I. 微小(バイオ)軟骨組織の力学試験法開発

再生医療用の細胞組織培養において、その成熟度の評価法の一つとして力学的性質を把握することは患部への移植適正時期を判定する上で重要である。そこで、通常力学試験を用いるのではなく、体積と圧力を用いて体積弾性率を測定する方法の開発を試みた。生体組織を対象とする測定の標準物質として、力学的物性値が既知であり生体軟組織のそれに近似している軟質シリコーンゴムを選んだ。

得られたシリコーンゴムの体積弾性率は従来の機械式測定値とは-1.9%の誤差しか生じておらず、正確な値が得られたと評価できる。

II. 動脈瘤栓塞材とステントの力学解析法開発

動脈瘤の治療は開頭シクリップで止める方法に代わってコイルや塞栓物質など血管内治療法が開発されてきている。血管内治療は低侵襲性など有利な点が多いが、医師は相当の技術が必要であり、*in vitro*での練習が不可欠である。また、新しい治療法の確立などのためにも、物性が血管に近いモデルは必要とされており、弾性率などの物性値が血管に近いPVA(ポリビニルアルコール)ハイドロゲルは、水を溶媒する摩擦係数が非常に低い、透明性のある材料である。また、非常に柔らかいものから硬い物まで作製することができる。本研究ではPVAハイドロゲルを用いて血管モデルの開発を試みた。

ステントが血流に及ぼす影響はいまだ解明されておらず、血流のコンピュータシミュレーションをすることで、血管および動脈瘤内の血流状態が把握でき、さらに動脈瘤治療法の確立に貢献すると考えられる。本研究では、血流から受ける血管の拡張(膨張)を考え、流体(血流)と構造(血管)の相互作用を考慮した計算を行い、血流の違いを調べた。

できあがった血管モデルは人体の弾性率に近く、また透明であり、シリコーンモデルと比べると低摩擦係数であった。ロストワックス法による血管モデルに関して必要とした技術はほぼ完成したと言える。

コンピュータシミュレーションの結果より、流体と構造の相互作用がある場合と無い場合では結果に差が生じ、この差は考慮するに値するほど大きいと考えられる。今後シミュレーショ

ンを進めていく上で相互作用を考慮していく必要があることが分かった。

I. 微小（バイオ）軟骨組織の力学試験法開発

1. 研究目的

軟骨や骨などの再生治療を目的とした細胞組織培養において、その成熟度の評価法の一つとして力学的性質を把握することは患部に移植するために適した時期を判定する上で重要である。しかしながら今まで、微小で軟らかい生体組織は歪や応力を正確に測定するための試験片として形状が整えられないため、通常の力学物性測定法では機械的性質は測定が困難であり、しかも測定によって組織が破壊するなどの損傷を受けるので、培養の途中段階で継続的に測ることができなかった。そこで、通常の力学試験を用いるのではなく、体積と圧力の関係を用いて体積弾性率を測定する方法を開発した。

1. 測定原理

Fig. 1 に容積計概略図を示す。

まず、基準気圧（例えば、大気圧）下にお

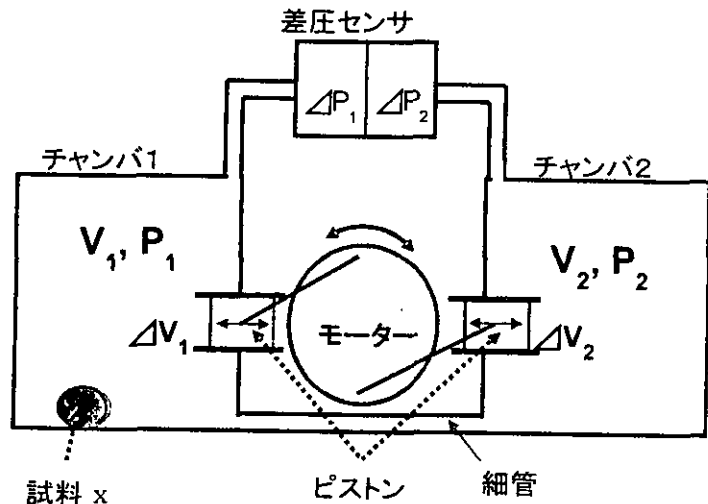


Fig.1 容積計概略図

かれた容積計の、測定用チャンバ1と比較用チャンバ2の容積を、ピストンの各チャンバ内への突入及び退出により、同位相で周期的に ΔV だけ変化させるものとする。ここで、チャンバ1の容積と圧力を V_1, P_1 、比較用容積チャンバ2の容積と圧力を V_2, P_2 、とする。両チャンバ1, 2間の微細管路は、 ΔV の変化に対して十分長い時定数で $P_1 = P_2$ となるように設定され、その ΔV 変化が一定周期で生ずることを考慮すれば、周期内の平均圧力を $P_1 = P_2 = P$ と表すことができる。この状態で、 PV 変化を与えるポリロープ指数を n とすると、準静的過程においては

$$P_1 V_1^n = \text{Const} \quad \dots (1)$$

この両辺を時間で微分すると、

$$P_1 n V_1^{n-1} dV_1 + dP_1 V_1^n = 0 \quad \dots (2)$$

より、この微分式(2)中の容積増分 dV_1 、及び圧力増分 dP_1 を容積変化 $\Delta V_1 = \Delta V$ 、及び対応する圧力変化 ΔP_1 と置換すれば、測定チャンバの圧力瞬時値 P_1 の分解能も ΔV 生成周期当たりとなり、 $P_1 = P$ が適用されることになる。従って、圧力変化式は

$$\Delta P_1 = -n P \Delta V / V_1 \quad \dots (3)$$

が得られ、同様に比較用容積チャンバについても $\Delta V_2 = \Delta V$ であるから、

$$\Delta P_2 = -n P \Delta V / V_2 \quad \dots (4)$$

が得られ、測定チャンバ(試料受け入れ部 1, 1') に試料を入れない状態では

$$\begin{aligned} \Delta P_1 - \Delta P_2 \\ = n P \Delta V (1/V_1 - 1/V_2) \quad \dots (5) \end{aligned}$$

ここで、微小体積 X を持った試料を測定チャンバに入れて残り容積を V_x とすると、その容積に応じた差圧が測定用チャンバ1と比較用容積チャンバ2の間に発生する。式(5)から

$$\begin{aligned} \Delta P_1 - \Delta P_2 \\ = n P \Delta V \cdot [1/(V_1 - X) - 1/V_2] \\ = n P \Delta V (1/V_x - 1/V_2) \quad \dots (6) \end{aligned}$$

前述の通り、上式(6)で、 $P_1 = P_2 = P$

を採用し得た理由は、測定用チャンバ1と比較用容積チャンバ2との間の空気抵抗が、十分長い時定数で両チャンバの圧力を平衡させる程度の大きさだからであるが、このような空気流通関係は、各チャンバと容積計の外部空間との間にも成立し、この P には容積計の既知又は設定値としての容積計外部圧力を用いることができる。これによって差圧 $\Delta P_1 - \Delta P_2$ を測定すれば、式(6)の右辺は容積 V_x 以外のすべてが既知の定数となるため、この V_x 、従って試料体積 X を容易に求めることができる。

2. 測定方法

3.1 測定装置

Fig. 2 に測定装置の構成概要図を示す。

差圧計の出力信号から、実際の差圧 $\Delta P_2 - \Delta P_1$ を表す有効出力 Y_s を抽出する方法は以下のとおりである。測定用チャンバに検体体積 X を投じたことで発生した差圧 $\Delta P_1 - \Delta P_2$ の出力信号は、結局、容積変化 ΔV を生ずるピストンの周期運動に応じた周波数の振動成分となる。

差圧計の出力をFFT(高速フーリエ変換)アナライザに入力し、得られた有効出力 Y_s は、 $Y_s \propto \Delta P_1 - \Delta P_2$ として用いられる。

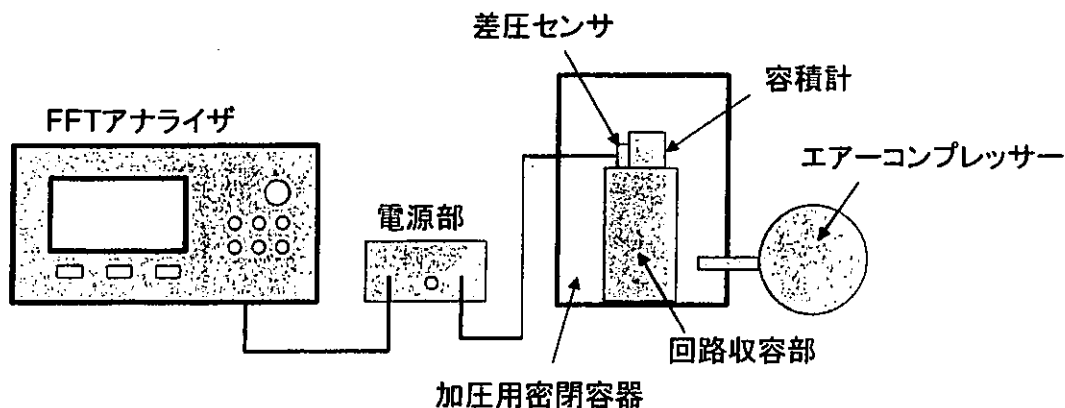


Fig.2 測定装置構成概要図

次に、容積計自体を基準圧力Pより高い気圧P' 下において、同様な容積変化ΔVが適用される測定用チャンバ1内の、より高圧となった微振動圧P₁' 下において変化（収縮）した同一検体の体積X' を得る。

$$X' = V_1 - V_{x'} \quad \dots (7)$$

これらの試料体積X及びX' の値から、体積歪みε_v及び体積弾性率Kは、

$$\epsilon_v = (X - X') / X \quad \dots (8)$$

及び

$$K = P / \epsilon_v \quad \dots (9)$$

として算出することができる。

3.2 較正曲線の作成

つぎに、未知試料についての差圧出力Y_sから、体積Xを求めるためのY_s - X校正曲線を作成する。

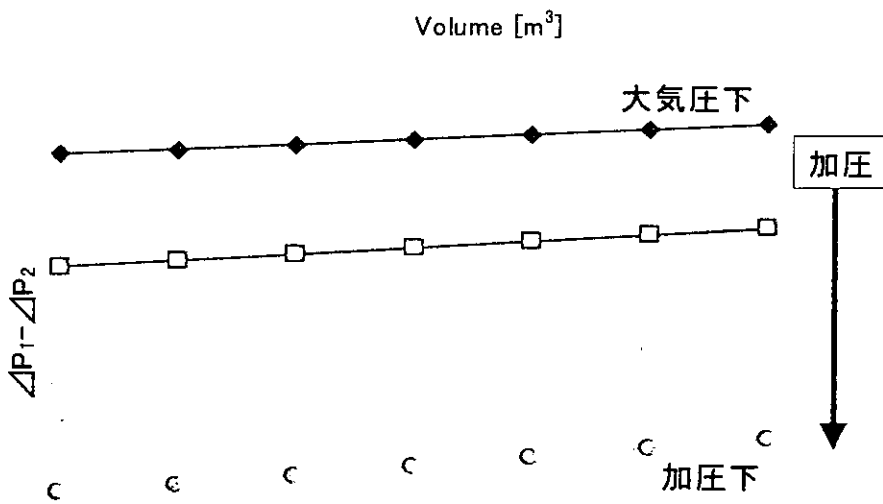


Fig. 3 理論的較正線図

△ 理論式より求めた較正線図

今、式(1)が成り立つとし、 $P_1 = P_2 = P$,

$\Delta V_1 = \Delta V_2 = \Delta V$ であるとする と、

$$\Delta P_1 - \Delta P_2 = \frac{nP\Delta V}{V_1 - V_x} - \frac{nP\Delta V}{V_2}$$

V_x を順次増やしていくとともに、圧縮空気によって容器内圧力は $P + \Delta P$ へ上昇するので、上式は、

$$\Delta P_1 - \Delta P_2 = \frac{n(P + \Delta P)\Delta V}{V_1 - V_x} - \frac{n(P + \Delta P)\Delta V}{V_2} = n(P + \Delta P)\Delta V \left(\frac{1}{V_1 - V_x} - \frac{1}{V_2} \right)$$

ここで、 n ：ポリトロブ指数、 P ：大気圧、 ΔP ：圧縮空気によって加えられる圧力

ΔV ：ピストンによって与えられる容積変化、 V_1, V_2 ：チャンバ1, 2の容積（た

し、 $V_1 : V_2 = 3 : 2$ ）

V_x ：試料体積、 $n=1.4$ として、各々に適当な値を与え、 ΔP および V_x をパラメータとして $\Delta P_2 - \Delta P_1$ を求めた。

加圧とともに、

$\Delta P_2 - \Delta P_1$ は低下

する傾向を示し、試料体積の増加とともに

直線の傾きは大きくなる傾向を示した。

△ 実験による校正曲線

体積既知で弾性率の十分高い試料、ここでは鋼球を、まず、大気圧 (0 kPa) 下において測定用チャンバの試料受け入れ部に入れたときの出力を求める。このとき、鋼球1個の体積を x 、個数 N として $X=Nx$ とする。実際の鋼球体積 x は 4.19 mm^3 であり、その0個から4個までの出力座標を打点して作図したものが Fig. 3 の最上部の点群である。

ついで、容積計ごと密閉容器に入れて圧縮

積計出力を求め、同様の作図をする。鋼球の体積弾性率は十分に大きいので、加えられる圧力 (高圧) に対して体積変化が殆ど起こらないものとみなせる。

これらの点群は、 X 座標ゼロ (試料なし) において各固有の出力を有し、一定の勾配を持った一次の回帰直線となっており、大気圧の時の校正直線を、

$$Y_s = a X + b \quad \dots (12)$$

高圧を加えたときの校正直線を、

$$Y_s' = a' X' + b' \quad \dots (13)$$

として表せることを示している。

Fig. 3 において、 Y_s 、 Y_s' と X 、 X' との直線関係の精度を示す寄与率 R^2 は、 $0.975 \sim 0.985$ であり、いずれも高精度である

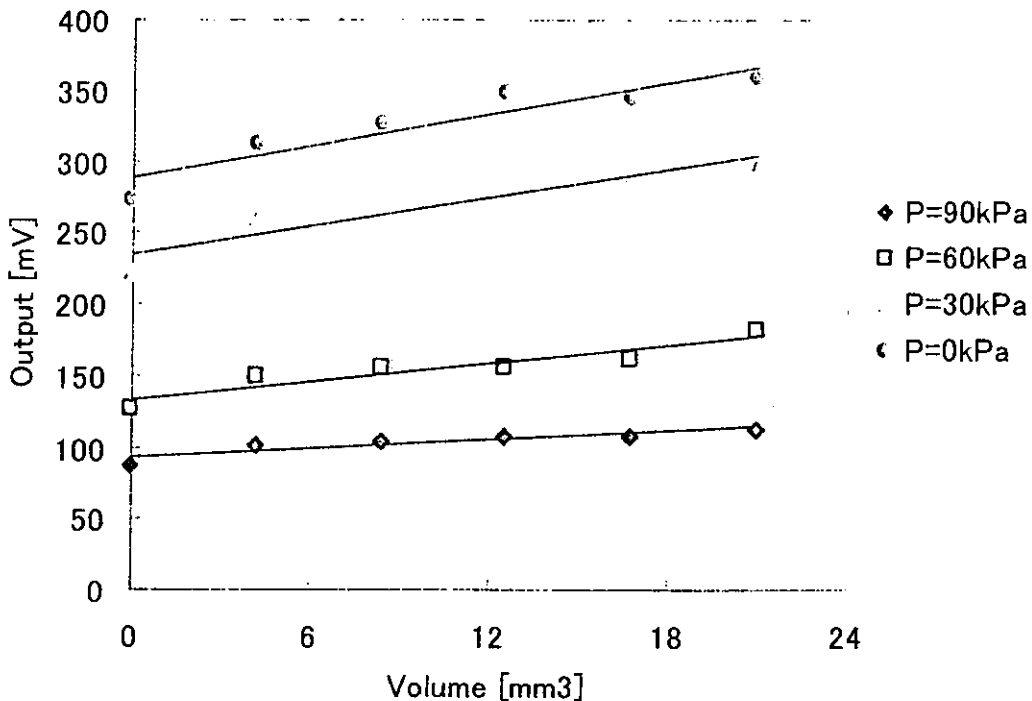


Fig.4 差圧出力 Y_s から体積 X を求める校正線図

空気を送り込み、同様の試料個数について容積計の出力を求め、同様の作図をする。ことが明らかである。

Table 1 標準物質として選んだ鋼とシリコーンゴム試料の体積と物性値

試料の種類	体積V [mm ³]	ヤング率E [kPa]	体積弾性率K [kPa]
鋼球	4.19	200 × 10 ⁶	170 × 10 ⁶
シリコンゴム片	11.5	50	417*

* ただし、 $K = E / 3(1 - 2\nu)$ であり、ポアソン比 $\nu = 0.48$ とする。

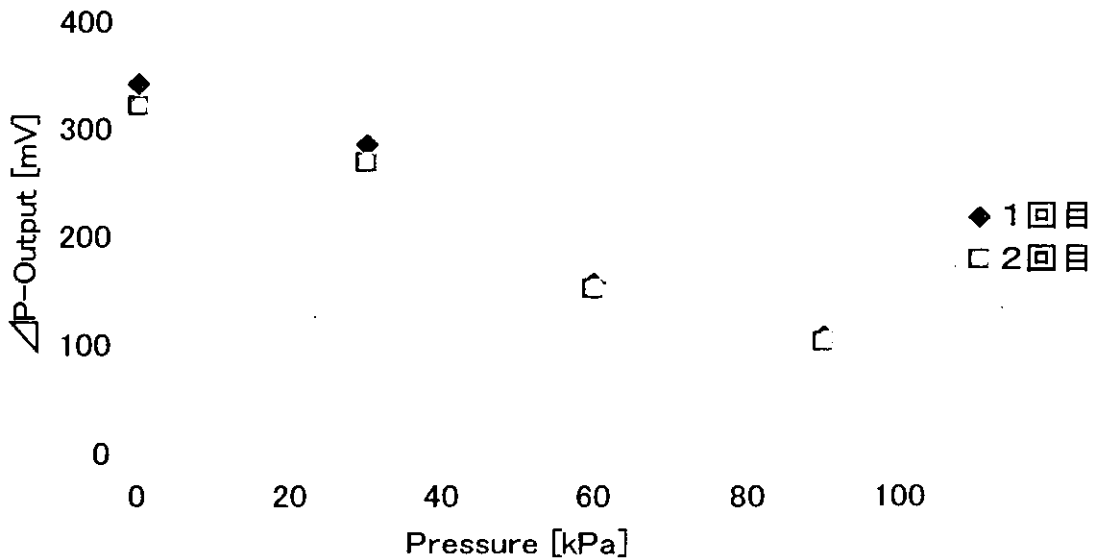


Fig. 5 シリコンゴム片2個の加圧下における差圧出力

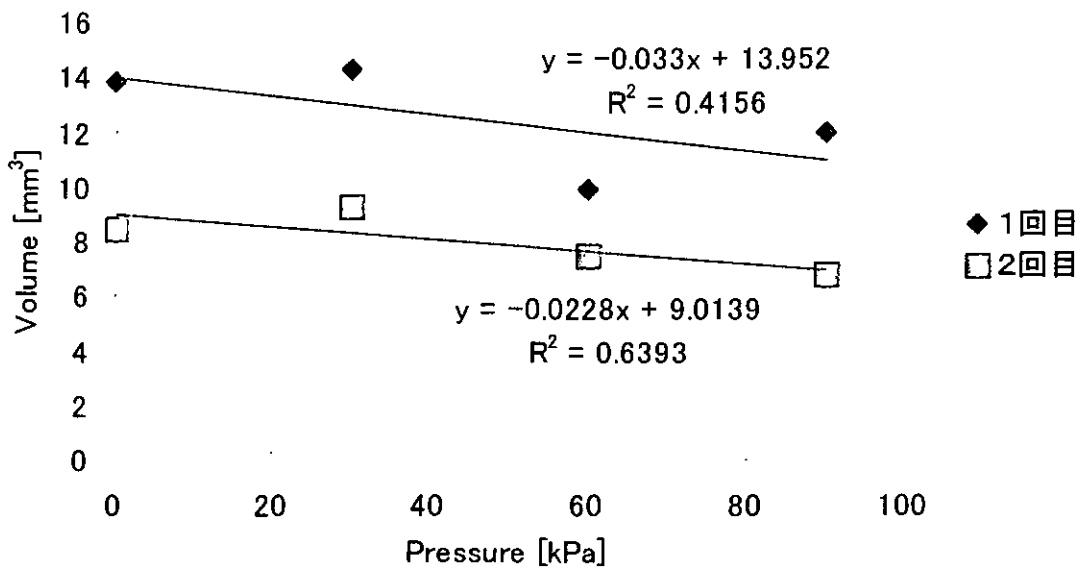


Fig. 6 シリコンゴム片2個の加圧下における体積変化

4. 測定例

4.1 シリコンゴム

生体組織を対象とする測定の標準物質として、力学的物性値が既知であり生体軟組織のそれに近似している軟質シリコンゴムを選んだ。Table 1において、その既知物性値を鋼球の物性値と共に示す。

Figs. 5, 6 の測定値から求められたシリコンゴム 2 片の体積弾性率はそれぞれ 422.79 kPa、395.35 kPa であり、平均 409.07 kPa であった。Table 1 に示した従来の機械式測定値から得られた体積弾性率 417 kPa とは -1.9% の誤差しか生じておらず、正確な値が得られたと解することができる。

4.2 ヒト軟骨細胞

△ 材料と方法

コラーゲンのスキャホールドと DME M 培養液中で 4 週間培養したヒト軟骨細胞を試料として測定した。試料内容を Table. 2 に示す。

Table.2 試料内容

サンプル名		内容	スキャホールド
静的培養群 (n=2)	DMEM (+)	軟骨細胞添加	コラーゲンゲル
	DMEM (-)	細胞無添加	

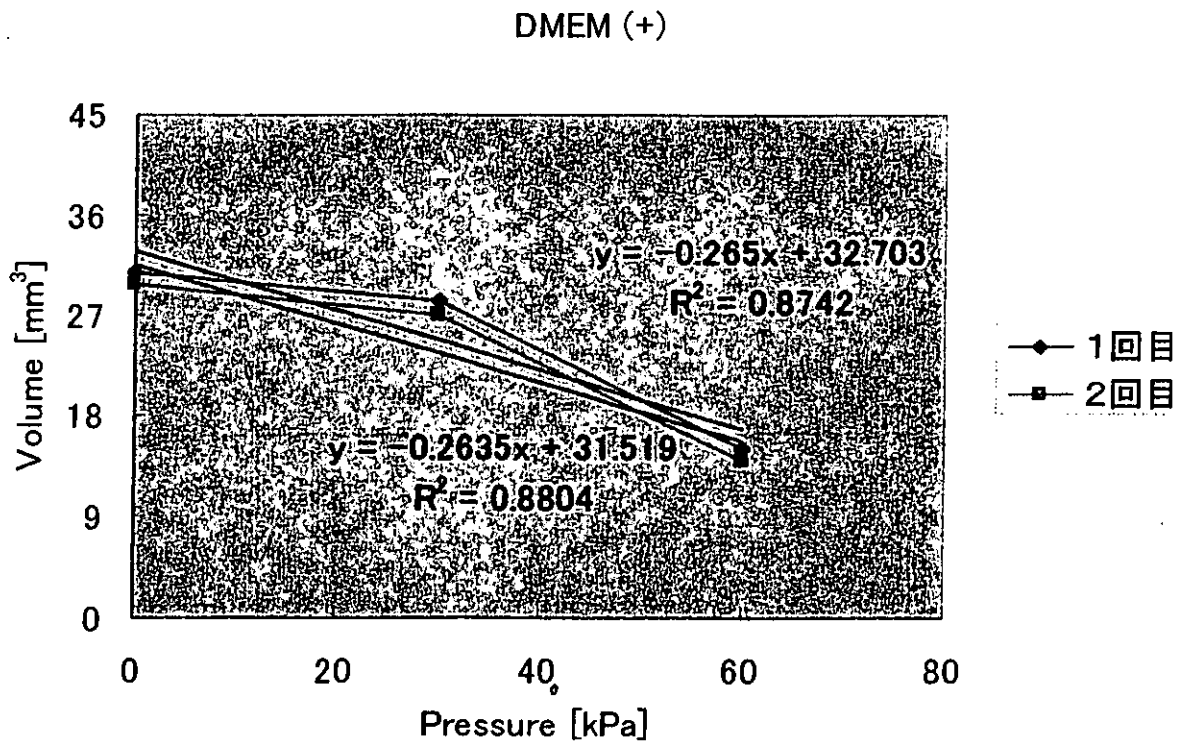


Fig. 7 軟骨細胞の加圧下における体積変化

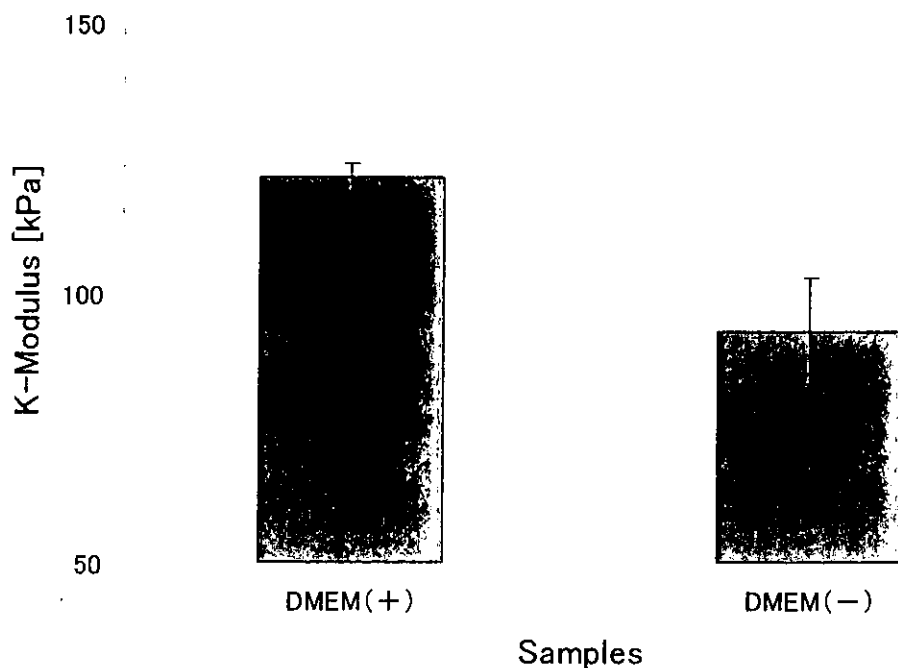


Fig. 8 コラーゲンをスキャホールドとしてDMEM中で4週間培養された軟骨細胞の体積弾性率（左）と細胞を含まないスキャホールドの体積弾性率（右）

上記試料について、圧力を加えたときの出力を求め、校正曲線より得た近似式を用いて各圧力における体積値を求めた。圧力は0, 30, 60kPa（ただし、0kPaは大気圧下における測定）とした。

△ 測定結果

Figs. 7, 8に測定結果を示す。軟骨細胞の増殖・成熟によってスキャホールド全体の体積弾性率が上昇していることが定量的に評価できた。

5. 結言

微小生体軟組織の強度特性を評価する手段として、加圧空気による体積変化を精密に測定し、体積弾性率を求める方法を考案した。試料を加工や損傷することなく、短時間で測定できるため、組織再生治療用に培養している細胞の成熟度を培養の途中段階で継続的に評価できる方法として利用が可能である。

6. 研究発表

(1) 国内 1 件

論文発表

- 堤 定美、姜 有峯、鄭 徳泳：微小生体組織の体積弾性率の in situ 測定法、「医療材料・医療機器の安全性と適合性」（土屋利江編、シーエムシー出版、東京）： pp. 193-199, 2003.