

表1 FTIR による分析結果の一覧

	トランス ビニレン指数	推定照射量 [kGy]	結晶化度 [%]	最大 酸化度
OUH006	0.016	43	70	5.9
OUH007	0.016	43	71	4.0
OUH008	0.020	55	78	4.9
OUH009	0.000	1	64	0.6
OUH010	0.015	40	77	6.9

表2 形状測定による摩耗量の推定

試料名	摩耗量 [mm <sup>3</sup> ]	摩耗量 [mm <sup>3</sup> /y]	線摩耗量 [mm]	線摩耗量 [mm/y]
OUH006	520	50.9	0.84	0.083
OUH007	-28	-1.4	-0.07	-0.004
OUH008	359	12.8	0.93	0.033

6. 吸収性材料による長期生体影響（神経毒性）  
のリスクアセスメント手法開発

角田 正史

厚生労働科学研究費補助金  
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)  
医療機器・医用材料のリスクアセスメント手法開発に関する研究  
分担研究報告書

吸収性材料（人工硬膜）による長期生体影響のリスクアセスメント手法開発  
：脳各部位神経伝達物質を用いた評価

分担研究者 角田 正史 北里大学准教授

人工硬膜モデル品と同じ濃度のオクチル酸スズ（OT）を含有したポリ（乳酸、グリコール酸、カプロラクトン等）共重合体（PLGC）膜、ジブチルスズ（DBT）を高濃度（スズ濃度100ppm）含んだPLGC膜、OTを高濃度（200ppm）含んだPLGC膜を、ラットの頭蓋骨に直径8mmの穴を開けて手術で埋め込み、術後の抗生物質の投与を行った上、2ヵ月観察した。神経系への影響を脳各部位の神経伝達物質及びその代謝産物で評価した。大脳中のセロトニン、セロトニンの代謝産物、ノルエピネフリン濃度について、高濃度DBT含有PLGC膜埋め込み群で対照群より有意な高値が観察され、スクリーニング手法としての可能性が示唆された。

#### A. 研究目的

脳外科手術時に使用される合成生体吸収性人工硬膜は、感染、再手術などのリスクを避けられる利点がある。吸収性人工硬膜の臨床使用では中枢神経系が含有化学物質（重合に触媒として使われるジブチルスズ（DBT）やオクチル酸スズ（2-エチルヘキサン酸スズ）（OT）など）に曝されるため、その安全性の評価は課題となっている。

今までの研究で、我々は、人工硬膜のモデルとして、ポリ（乳酸、グリコール酸、カプロラクトン等）共重合体（PLGC）で構成された膜を作製し、ラットに脳外科手術を行い、頭蓋骨をくり抜き、頭蓋内にPLGC膜やDBTやOT濃度が異なるPLGC膜を埋め込み、観察期間の後に神経毒性の評価を行ってきた。昨年の研究で頭蓋骨のくり抜き直径を8mmに設定し抗生物質を投与すると、2ヵ月間の観察が可能で、観察中に十分な挿入した膜の溶解が示唆され、かつ脳表面の損傷も過去の研究のくり抜き直径が1cmの場合よ

り良く、また8mmのくり抜き直径で抗生物質の投与なしで1月間観察した場合よりも、統計学的相違はないものの、やや改善したという結果であった。つまりモデル実験として、頭蓋骨のくり抜き直径を8mmにして、2ヶ月間の観察を行うことが現時点で適当と言う結論となった。

神経毒性の評価法としては、代表的な行動学試験で特にスクリーニングに使用される、オープンフィールド試験とprepulse inhibition (PPI) testで評価を行ってきた。オープンフィールド試験は主に移所運動活性を測定し、あわせて一般適応行動変化を捉える（高田、1990）。PPI testは聴性驚愕反応を用いた試験法で、認知機能、学習機能を測定する（Inada, et al. 2003, Kobayashi et al. 2004）。しかし、行動学試験では、頭蓋骨くり抜き8mm及び1cmの場合には、高濃度DBT含有膜、高濃度OT含有膜での挿入でも対照群に比べて有意な影響を示さなかった。毒性が顕著ではないことを示唆はさ

れたが、一方で、毒性を示す陽性対照の欠如でもあり、他の指標を用いる必要性も示唆された。

神経毒性の評価法として、脳の各部位の神経伝達物質とその代謝産物を測定する方法があり、有機スズの神経毒性の評価にも用いられている

(Tsunoda, et al., 2006, 2007)。神経伝達物質及びその代謝産物の濃度変化は、毒性影響がsubclinicalなレベルでも出現する鋭敏な指標であるという利点があり、過去の我々の研究でも1cmの頭蓋骨くり抜き実験では変化が検出されている。

そこで、今回の研究では、頭蓋骨くり抜きの直径を8mmに設定し抗生物質を投与し感染防止の手段を講じた上で、PLGC膜を埋め込んだラットについて、観察期間2ヵ月の後に、脳各部位の神経伝達物質及びその代謝産物を測定し、吸収性材料の安全性評価のための実験モデルを確立する基礎資料とすることを目的とした。

## B. 研究方法

### 1) 実験動物

実験動物は雄のWistar系ラット（オリエンタル酵母、東京）の9～10週令を使用した。ラットをcontrol（手術のみを行う群）、モデル人工硬膜品として、一般に触媒として汎用される濃度のOTを含有する、モデル品PLGC膜埋め込み群、高濃度OT含有PLGC膜埋め込み群、高濃度DBT含有PLGC膜埋め込み群の4群に分けた（n=11/群、高濃度DBT含有PLGC膜埋め込み群のみn=10）。

ラットはポリカーボネート製のケージに同じ群のラットと2匹ずつの組で飼われ、餌と水を自由に摂取した。飼育室の環境条件は14時間/10時間のlight/darkサイクルで、温度は22℃、湿度は45%であった。動物の扱い及び

処置に関しては、北里大学医学部動物実験・倫理委員会のガイドラインに従い、委員会で許可を受けた。

### 2) PLGC膜

モデル品PLGC膜は、OTの濃度はスズ濃度として最大20ppmを含有するPLGC膜で、三重膜の構造をもった厚さ300μmのものを作製した。高濃度OT含有PLGC膜は厚さは300μmとし、OT濃度をスズ濃度換算で200ppmとし、高濃度DBT含有PLGC膜は、同様に構造は三重膜で、厚さは300μm、残存スズ濃度換算でDBT濃度を100ppmとしてテーラーメイドで作製した。三種類の膜はそれぞれ、清潔下に約6.5mm四方に切り出した後、角を切り落として八角形にして、埋め込み用試料とした。

埋め込み時のモデル品PLGC膜の重量の平均値±標準誤差は  $14.8 \pm 0.6$ mg、高濃度OT含有PLGC膜  $12.7 \pm 0.8$ mg、高濃度DBT含有PLGC膜  $13.6 \pm 0.4$ mgであった。

### 3) ラットへの手術の方法、観察期間

ラットの埋め込み手術時の群別の平均体重±標準誤差は、control群  $376.0 \pm 15.7$  g、モデル品PLGC膜埋め込み群  $348.5 \pm 10.3$  g、高濃度OT含有モデル品PLGC膜埋め込み群  $356.7 \pm 7.6$  g、高濃度DBT含有モデル品PLGC膜埋め込み群  $354.5 \pm 7.6$  gであった。

ラットに腹腔内投与麻酔を行い脳定位固定装置（SR-6R, Narishige）に先端がとがっていないラット用補助イヤバーを用い、固定した。ラットの頭蓋骨を露出し、電動式手術器械（ドリルシステム）Osada Success 40M2（オサダメディカル）を用い、内径8mmのポーントレフィンバーBTB-80（長谷川メディカル）を用いて、頭蓋骨から直径8mmの円形の頭蓋骨片をくり抜いた。くり抜いた穴より、モデル品PLGC膜

か、高濃度OT含有PLGC膜、または高濃度DBT含有PLGC膜を頭蓋内に入れ、上からくり抜いた頭蓋骨片をかぶせた。control群に関しては頭蓋骨片を戻すのみとした。骨片を戻した後に骨膜及び皮膚を、針付きナイロン縫合糸で縫合した。術後1週間、手術部位を消毒し、抗生物質犬猫用バイトリル2.5%注射液を5mg/kgの用量で腹腔内注射を行った。術後2ヵ月、同じ群から2匹ずつ一つのポリカーボネート製のケージに入れ飼育した。ラットの体重を毎日測定した。

#### 4) 脳の肉眼的観察、膜回収、脳の分割、神経伝達物質の抽出

手術の2ヵ月後、断頭によりラットを安楽死させ、脳を摘出した。脳の表面から膜を回収し、膜重量を測定した。

脳の表面部を観察し損傷の有無を評価した後に、氷冷下でGlowinski and Iversen (1966)の方法で7部位（大脳 cerebrum、小脳 cerebellum、延髄 medulla oblongata、中脳 midbrain、線条体 corpus striatum、視床下部 hypothalamus、海馬 hippocampus）に分割した。分割した脳は重量を測定しながら即座に氷冷した0.05 M perchloric acid with 0.1% cysteine に漬けてホモジェナイズし、神経伝達物質及びその代謝産物を抽出した。サンプルを遠心し、上清を更に0.2 µmのポアサイズフィルターを用いて遠心濾過し、濾過液を神経伝達物質測定用サンプルとして-80°Cで保存した。

#### 5) 神経伝達物質及びその代謝産物の測定

電気化学検出器(Electrochemical detector, ECD)付高速液体クロマトグラフィーを用いて、ノルエピネフリン(norepinephrine, NE) ドーパミン(dopamine, DA), ドーパミンの代謝

産物、dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), homovanillic acid (HVA), インドールアミンであるセロトニン serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT), セロトニンの代謝産物

(5-hydroxyindoleacetic acid, 5-HIAA)を同時に測定した。システムは GL サイエンス ED703 ECD (GL サイエンス), 日立 L-6300 ポンプ (Hitachi, Tokyo), GASTORR BG-12デガッサー、GL サイエンス CO630カラムヒーター (GL サイエンス)で構成され、逆相カラム (Inertsil ODS-3, 4.6×150 mm, particle size 5 µm, GL サイエンス) を用いた。溶離液の組成は9.6 g/l citric acid, 100 mg/l sodium octane sulfate, 40 mg/l EDTA, 15% メタノールであった。カラムヒーターは 35°Cに保持され、観察時間は30分間、流量 1.0 ml/minであった。標準溶液として100 ng/mlの濃度のNE bitartate, DA hydrochloric acid, DOPAC, HVA creatinine sulfate, 5-HIAA dicyclohexylammonium (Sigma)をそれぞれ含む 0.1% cysteine 入りの 0.05 M perchloric acid を用い、検量線を作成し、定量を行った。

#### 7) 統計解析

各神経伝達物質濃度及び代謝産物の濃度の群毎の平均値を算出し、一元配置分散分析(ANOVA)で比較し、post hoc testにはStudent-Newman-Keuls法を用いた。またDOPAC/DA, HVA/DA, 5-HIAA/5-HTを計算し、同様の解析を行った。なお脳表面の観察により、脳の損傷の度合いが強いものは除外した。

### C. 研究結果

- 1) 埋め込み手術後の体重変化及び実験終了後の脳の観察所見、膜の吸収  
曝露期間を通じて、ラットの体重に

ついて、群間で有意性はなく、実験終了時の各群の体重の平均値±標準誤差はcontrol群 517.9±16.6 g、モデル品PLGC膜埋め込み群518.5±9.4 g、高濃度OT含有膜埋め込み群 513.3±11.0 g、高濃度DBT含有膜埋め込み群514.9±11.6 gであった。

回収した膜から計算した膜の吸収重量の平均値±標準誤差は、モデル品PLGC膜6.28±0.56 mg、高濃度OT含有PLGC膜は 9.75±0.86 mg、高濃度DBT含有PLGC膜は5.94±0.39mgであった。

脳表面の観察所見については、多くのラットで、大脳表面に骨の切り出しの円形に相当した痕が見いだされ、表面が壊死している個体、大脳皮質の損傷が深く海馬に及んでいる個体もあった。壊死や損傷が海馬に及んでいるものを損傷が著しい個体と判断し、脳表面の損傷が著しいcontrol群 1匹、モデル品PLGC膜埋め込み群 3匹、高濃度OT含有PLGC膜埋め込み群 3匹、高濃度DBT含有PLGC膜埋め込み群 2匹は解析から除いた。その結果、control 10匹、モデル品PLGC膜埋め込み群、高濃度OT含有PLGC膜埋め込み群、高濃度DBT含有PLGC膜埋め込み群 8匹の解析となった。

## 2) 神経伝達物質

図1に大脳における神経伝達物質及びその代謝産物の濃度について示した。高濃度DBT曝露群では、NE, 5-HT, 5-HIAA濃度がcontrol群に比べて有意に高かった。またpost hoc testでは有意水準に達しないが、分散分析ではDAについて有意であり、またDOPACについてもp=0.075であった。

表1ではNEについて大脳以外の部位中の濃度の平均値を示した。線条体において高濃度OT群がcontrolに比べてNEの平均値が有意に高かった。表2にはDA及びDA代謝産物の濃度を

示した。いずれの部位についても、群間で有意性を示さなかった。

DOPAC/DA, HVA/DAについても群間で有意な差はなかった。

図2に線条体、視床下部、海馬における5-HT, 5-HIAA濃度について示した。線条体については、モデル品PLGC膜挿入群、高濃度OT群、高濃度DBT群全てで5-HTの平均値がcontrolより有意に高かった。視床下部については、高濃度OT群の5-HIAAの平均値がcontrol群に比べ有意に高かった。海馬については、5-HIAAについて分散分析でp=0.063であった。表3にその他の部位の5-HT, 5-HIAA濃度を示したが、群間で有意性はなかった。

5-HIAA/5-HTの平均値について、線条体、視床下部、海馬について示したが、視床下部、海馬において、5-HIAA/5-HTの平均値は、モデル品PLGC膜挿入群、高濃度OT群、高濃度DBT群全てでcontrol群より有意に高かった。

## D. 考察

頭蓋内で吸収される吸収性人工硬膜の毒性学評価(特に触媒として使用されるDBT、OTの脳への影響への評価)について、今回使用した動物モデル、つまり頭蓋骨くり抜き直径を8mmと確定し、手術後の観察期間を2ヵ月とし、術後の消毒と抗生物質投与を行った動物モデルは、実験に使用したラットの体重が、順調に増加し、明らかな臨床的な所見は見られず、2ヵ月の観察期間で膜の吸収も明らかで、実際の臨床適用に近づいたモデルであり、脳表面の損傷の改善がなお必要とされるものの、抗生物質の投与の効果も見られたと判断可能なモデルであった。しかし評価に行動学試験を使用した場合にはDBT高濃度含有膜を挿入してもcontrolとの有意差は検

出できなかったモデルでもあり、リスクアセスメント手法としては、特に高濃度のDBTを含んだ膜を挿入した群に、何らかの異常を検出できるような感度の高い方法が求められていた。そこで、今回は脳各部位の神経伝達物質及びそれらの代謝産物の濃度で評価を行った。

今回の研究では、大脳において、NE、5-HT、5-HIAAで高濃度DBT含有膜挿入群がcontrol群に比べ、有意に高かった。DAについてもpost hoc testで有意差はなかったものの、分散分析では有意で、かつ高濃度DBT含有膜挿入群の平均値は高く、DOPAC（分散分析で $p < 0.1$ ）、HVAでも高濃度DBT膜挿入群の平均値は高かった。挿入した膜に接している大脳で、神経伝達物質及び代謝産物の増加が起きたことは、高濃度DBTを含む膜による影響の可能性があり、この膜の挿入が神経伝達物質を指標とする場合には、毒性影響を起こす陽性対照として使える可能性があることを示唆する。但し神経伝達物質の濃度の変化は単純に毒性を示すものと解釈するのは難しいので、DBTの濃度などに更なる検討を行い、行動学試験とあわせての評価を今後行うべきであろう。

本研究では他に高濃度OT含有膜挿入群での線条体でのNEの上昇、視床下部での5-HIAAの上昇、全ての膜挿入群で線条体における5-HT濃度の上昇、視床下部、海馬における5-HT代謝の変化が示された。これらが毒性学的評価に使えるかどうかは、今後実験を積み重ね判断する必要があり、また機序についても検討する必要がある。

モデル実験には、まだ課題があり、脳損傷を減ずるためには、抗生物質の術前投与は感染防止を更に有効にするために必要かもしれない。他に麻酔薬の選択、使用ラットの週令（より若

い週令)についても検討の余地がある。

#### 参考文献

- Glowinski J. and Iversen LL. (1966) Regional studies of catecholamines in the rat brain-I. The disposition of [ $^3$ H]norepinephrine, [ $^3$ H]dopamine and [ $^3$ H]DOPA in various regions of the brain. *Journal of Neurochemistry*, 13, 665-9.
- Inada, K., Ishigooka, J., Anzai, T., Suzuki, E., Miyaoka, H. and Saji, M. (2003) Antisense hippocampal knockdown of NMDA-NR1 by HVJ-liposome vector induces deficit of prepulse inhibition but not of spatial memory. *Neuroscience Research*, 473-481.
- Kobayashi, R., Sekino, Y., Shirao, T., Tanaka, S., Ogura, T., Inada, K. and Saji, M. (2004) Antisense knockdown of drebrin A, a dendric spine protein, causes stronger preference, impaired pre-pulse inhibition, and an increased sensitivity to psychostimulant. *Neuroscience Research*, 49, 205-217.
- 高田孝二. 行動毒性試験の概要 一般行動観察による方法 脊椎動物. 柳田知治編、毒性試験講座8 薬物依存、行動毒性. 地人書館、東京、pp.198-212, 1990.
- Tsunoda, M., Aizawa, Y., Konno, N., Kimura, K. and Sugita-Konishi, Y. (2006) Subacute administration of tributyltin chloride modulates neurotransmitters and their metabolites in discrete brain regions of maternal mice and their F1 offspring. *Toxicology and Industrial Health*, 22, 15-25.
- Tsunoda, M., Nakano, K., Konno, N. and Aizawa, Y. (2007) The effects of triphenyltin (TPT) chloride on regional brain neurotransmitters and spleen weight in mice after subacute oral exposure. *Kitasato Medical Journal*, 37, 102-111.

#### E. 結論

本年度研究では高濃度DBT含有膜

埋め込み群において、対照群と比べ、神経伝達物質及びその代謝産物の有意な高値が示され、人工硬膜の安全性評価のモデル実験系において。陽性対照として使用できる可能性が示された。

G. 研究発表：

1. 論文発表

特になし。

2. 学会発表

辻雅善、井上葉子、菅谷ちえ美、魚田正史、菅谷津貴子、高橋正身、柚場俊康、土屋利江、相澤好治（2009）人工硬膜の主成分であるポリ乳酸ラクチド及び合成時の触媒であるジブチルスズ、オクチル酸スズのアストロサイト系細胞に対する毒性評価。日本衛生

学雑誌、64、463.

魚田正史、菅谷ちえ美、井上葉子、工藤雄一郎、佐藤敏彦、片桐裕史、秋田久直、佐治眞理、土屋利江、相澤好治（2009）人工硬膜の安全性評価に関する研究（第3報）：人工硬膜（直径8mm）埋め込みラットに対する行動学試験。日本衛生学雑誌、64、464.

魚田正史、峽戸孝也、細川まゆ子、工藤雄一郎、土屋利江、相澤好治（2009）合成吸収性人工硬膜の安全性評価に関する研究：動物モデルの2ヶ月観察後の行動学試験。Biomedical Research on Trace Elements, 20(2), 170.

H. 知的財産権の出願・登録状況：

特になし。



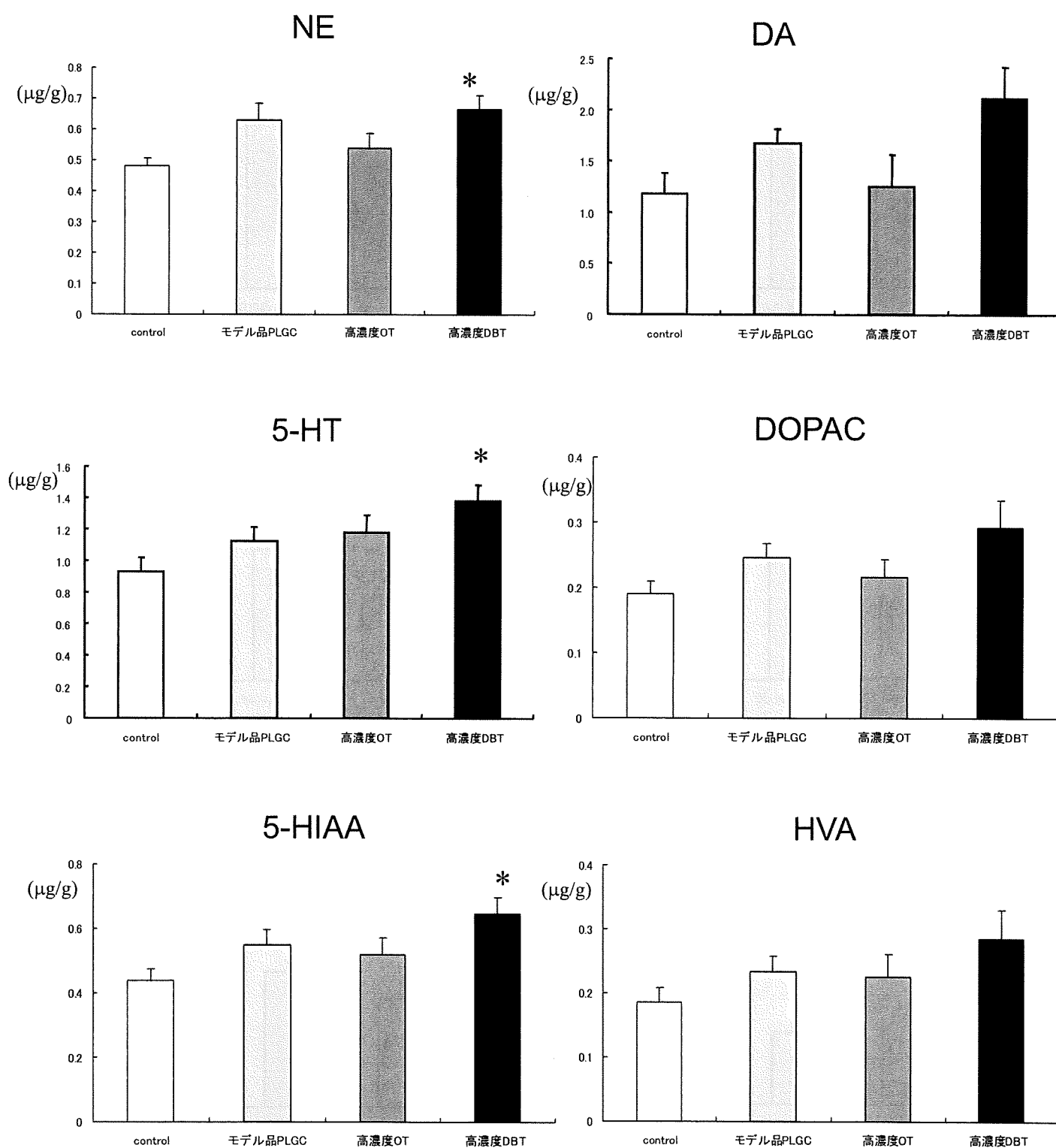


図1. 人工硬膜埋め込みラット(埋め込み直径8mm)2ヶ月経過後の  
 大脳NE, 5-HTとその代謝産物、DAとその代謝産物濃度

注) 平均値±標準誤差で示す。\*:  $p < 0.05$  by compared with the control group by Student-Newman-Keuls test followed by  $p < 0.05$  by ANOVA..  $p=0.049$  for DA (significant difference),  $p = 0.075$  for DOPAC,  $p=0.140$  for HVA.

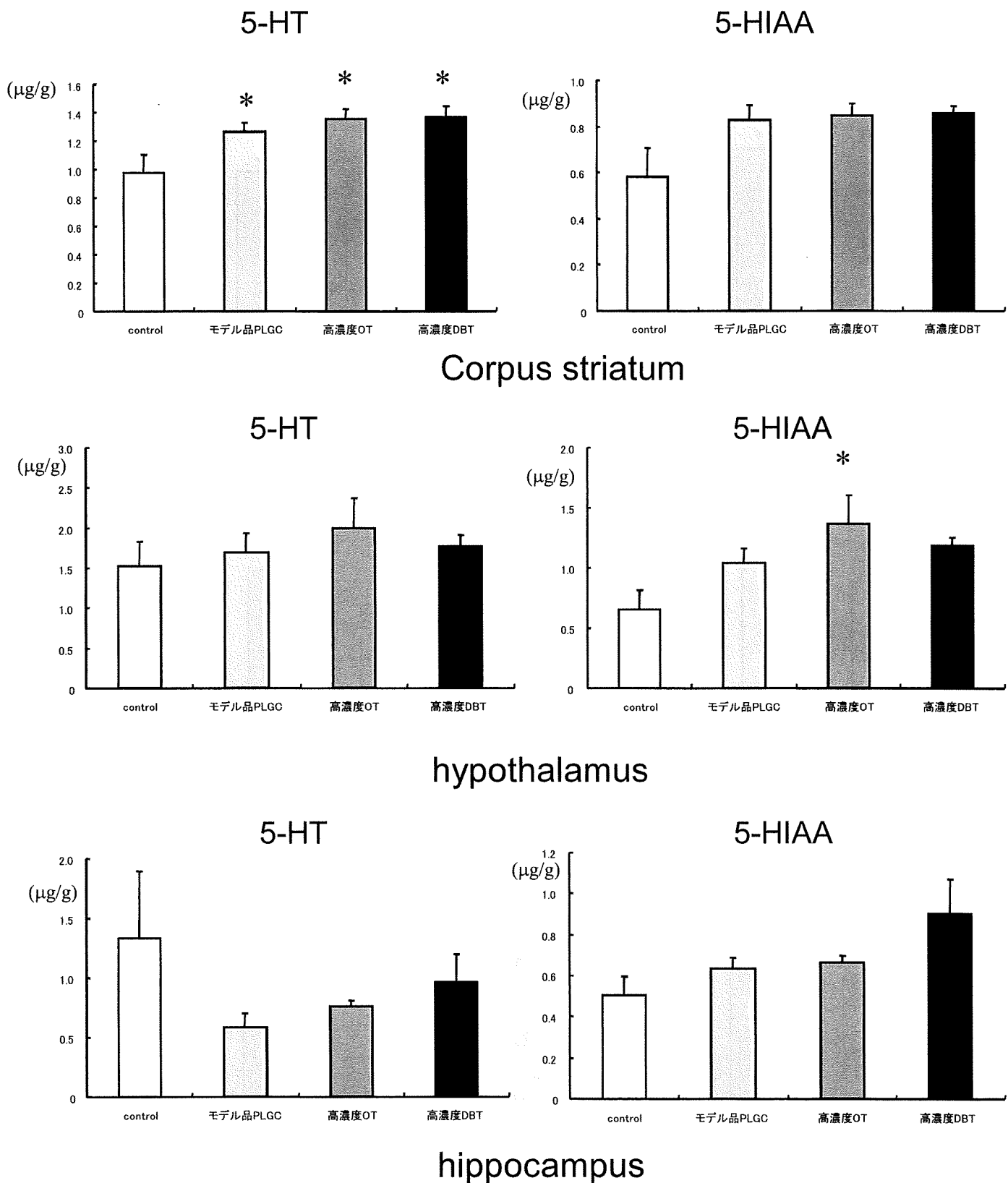


図2. 人工硬膜埋め込みラット(埋め込み直径8mm)2ヶ月経過後の線条体、視床下部、海馬の5-HTとその代謝産物濃度

注) 平均値±標準誤差で示す。\*:  $p < 0.05$  by compared with the control group by Student-Newman-Keuls test followed by  $p < 0.05$  by ANOVA.  $p=0.072$  for 5-HIAA for the striatum,  $p = 0.691$  for 5-HT in the hypothalamus,  $p=0.465$  for 5-HT and  $p = 0.063$  for 5-HIAA in the hippocampus by ANOVA.

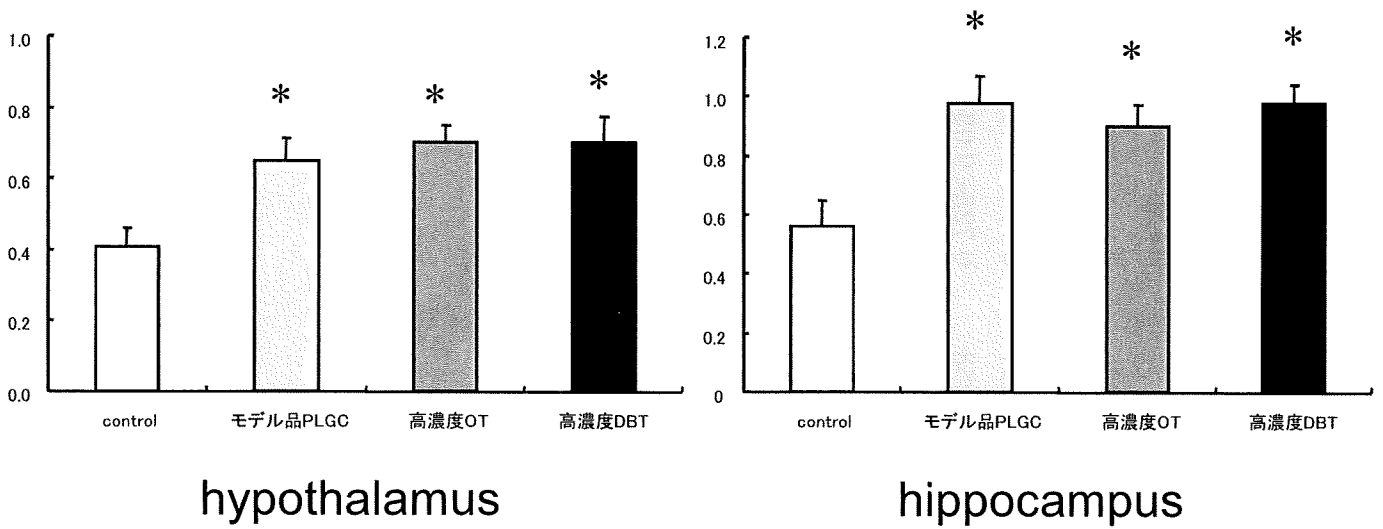
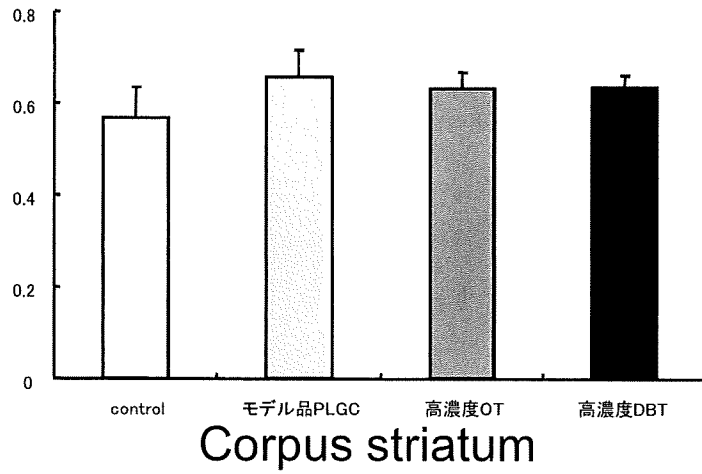


図3. 人工硬膜埋め込みラット(埋め込み直径8mm)2ヶ月経過後の線条体、視床下部、海馬の5-HIAA/5-HT比

注) 平均値±標準誤差で示す。\*:  $p < 0.05$  by compared with the control group by Student-Newman-Keuls test followed by  $p < 0.05$  by ANOVA.  $p=0.623$  for the striatum by ANOVA.

表1 人工硬膜埋め込みラット（埋め込み直径8 mm）2ヶ月経過後の脳各部位のノルエピネフリン（NE）濃度

群	cerebellum	medulla oblongata	midbrain	corpus striatum	hypothalamus	hippocampus
control	0.291±0.021	0.700±0.051	0.552±0.036	0.614±0.026	3.213±0.370	0.838±0.192
モデル版 PLGC	0.303±0.015	0.644±0.035	0.572±0.035	0.724±0.032	3.470±0.338	0.591±0.048
高濃度 OT	0.317±0.019	0.642±0.026	0.620±0.047	0.713±0.034*	4.593±1.038	0.683±0.050
高濃度 DBT	0.358±0.029	0.568±0.053	0.638±0.053	0.725±0.038	3.637±0.222	0.874±0.291

注) 平均値±標準誤差(μg/g)で示す。\*p < 0.05 by Student-Newman-Keuls test followed by p < 0.05 by ANOVA.

表2. 人工硬膜埋込みラット（埋め込み直径8 mm）2ヶ月経過後の脳各部位のドーパミン（DA）、ドーパミン代謝産物（DOPAC, HVA）濃度

群	cerebellum	medulla oblongata	midbrain	corpus striatum	hypothalamus	hippocampus
<b>DA</b>						
control	n.d	0.039±0.003	0.436±0.086	1.282±0.160	0.406±0.056	0.441±0.295
モデル版 PLGC	n.d	0.037±0.003	0.395±0.083	1.245±0.186	0.394±0.069	0.124±0.037
高濃度 OT	n.d	0.034±0.002	0.325±0.059	1.454±0.141	0.618±0.140	0.148±0.022
高濃度 DBT	0.004±0.002	0.028±0.004	0.279±0.047	1.303±0.100	0.389±0.062	0.196±0.054
<b>DOPAC</b>						
control	0.019±0.003	0.028±0.001	0.124±0.020	0.270±0.037	0.115±0.022	0.138±0.057
モデル版 PLGC	0.023±0.012	0.033±0.004	0.099±0.019	0.308±0.042	0.142±0.036	0.071±0.011
高濃度 OT	0.022±0.004	0.031±0.004	0.079±0.010	0.316±0.041	0.167±0.029	0.084±0.012
高濃度 DBT	0.024±0.002	0.025±0.002	0.084±0.014	0.297±0.033	0.105±0.021	0.132±0.067
<b>HVA</b>						
control	0.027±0.004	0.053±0.046	0.084±0.015	0.232±0.036	0.018±0.010	0.083±0.053
モデル版 PLGC	0.039±0.011	0.074±0.068	0.070±0.010	0.251±0.039	0.008±0.008	0.064±0.017
高濃度 OT	0.039±0.007	0.007±0.003	0.076±0.013	0.332±0.038	0.020±0.013	0.058±0.015
高濃度 DBT	0.041±0.010	0.001±0.001	0.065±0.009	0.275±0.024	0.005±0.005	0.064±0.017

注) 平均値±標準誤差(μg/g)で示す。n.d: not detected

表 3. 人工硬膜埋め込みラット (埋め込み直径 8 mm) 2 ヶ月経過後の脳各部位のセロトニン (5-HT)、セロトニン代謝産物 (5-HIAA) 濃度

群	cerebellum	medulla oblongata	midbrain
5-HT			
control	0.120±0.019	1.036±0.153	0.991±0.103
モデル版 PLGC	0.087±0.026	0.965±0.151	1.033±0.103
高濃度 OT	0.102±0.031	1.088±0.048	1.097±0.066
高濃度 DBT	0.198±0.098	0.949±0.131	1.219±0.145
5-HIAA			
control	0.149±0.015	0.650±0.063	0.793±0.047
モデル版 PLGC	0.141±0.011	0.649±0.054	0.769±0.065
高濃度 OT	0.149±0.009	0.648±0.034	0.824±0.052
高濃度 DBT	0.222±0.053	0.551±0.069	0.881±0.075

注) 平均値±標準誤差(μg/g)で示す。

## 7. コンピュータシミュレーションによる 人工膝関節のリスクアセスメント手法開発

東藤 貢

コンピュータシミュレーションによる人工膝関節の  
リスクアセスメント手法開発に関する研究

分担研究者 東藤 貢 九州大学応用力学研究所准教授

本年度の研究では、膝関節の屈曲動作をコンピュータ上で再現するために、バーチャル・膝シミュレータの開発を試みた。このシミュレータは実験で使用される実際の膝シミュレータの構造を考慮しており、実験結果と数値解析結果との対応が容易であることが長所として挙げられる。さらに、下肢の屈曲動作を簡易的に模擬しているため、各動作のメカニズムが理解しやすく、また各境界条件を変化させることで、様々な屈曲動作に対応することが可能である。

### A. 研究目的

人工膝関節の安全性や耐久性は、超高分子量ポリエチレン(UHMWPE)インサートの安全性と耐久性で決定されると言っても過言ではない。したがって、膝関節の動作状態における UHMWPE インサートの応力状態を知ることが重要である。本研究者は、これまで CAD データと非線形バネモデルから構築した簡易解析モデル、骨と軟組織から構成される部分的な膝関節モデルに人工膝関節の CAD データを組み込んだ実構造 TKA モデル等を作成し、応力解析を行い得られた結果の妥当性を検証してきた。しかし、実験との対応が困難であること、また実際の動作状態をより高精度で再現するには、筋肉の作用を考慮することが必要等の問題点が生じた。

そこで本研究では、実験との対応が比較的容易であり、さらに筋肉の影響を導入することが可能なバーチャル膝シミュレータモデルの構築を試みた。バーチャル・シミュレータは実験において利用されている膝関節シミュレータをコンピュータ上で再現したものである。

### B. 研究方法

図1に開発したバーチャル・シミュレータの外観を示す。シミュレータの機械構造部分は実際の実験用シミュレータを参考にして構築した。膝関節部は、成人男性の下

肢の CT 画像と MRI 画像を用いて作成した 3次元膝関節モデルを利用した。膝関節は、大腿骨、脛骨、膝蓋骨、膝蓋腱から構成されている。また、側副靭帯は単純化したモデルを採用した。膝関節モデルに装着した人工膝関節は、臨床応用されている現行の PS 型人工膝関節の CAD データを基に、ステム部分を取り除き簡易化したものである。膝関節モデルは、図1に示すように円形断面の剛体棒で機械構造部と連結している。また、筋肉としては今回開発した第1号モデルでは大腿四頭筋のみを考慮しており、図1に示すように機械構造部の大腿骨に対応する部分に連結されている。シミュレータ全体を 4 節点 4 面体要素で分割し有限要素解析モデルを構築した。節点数は 136459、要素数は 590213 である。

材料モデルとしては、機械構造部、人工関節の大腿・脛骨コンポーネント、大腿骨、脛骨、膝蓋骨はすべて剛体を仮定した。応力状態に着目している UHMWPE 製の脛骨インサートについては、圧縮実験から得られた弾塑性応力-ひずみ挙動を 3 直線近似でモデル化したものを採用した。ヤング率  $E=800\text{MPa}$ 、降伏応力  $\sigma_y=16\text{MPa}$ 、ポアソン比  $\nu=0.4$  である。大腿四頭筋と膝蓋腱は線形弾性体を仮定した ( $E=90\text{MPa}$ ,  $\nu=0.3$ )。また、側副靭帯については Maxwell 粘弾性モデルを採用した。大腿骨コンポーネントと脛骨インサートの間の摩擦係数は



0.04とした。

力学的境界条件としては、機械構造部上部の臀部にあたる部分に 300N の一定負荷を鉛直下向きに作用させた。また、大腿四頭筋については 0 荷重からスタートし一定時間後に 300N に達するように設定した。これらの条件の下、生体膝の屈曲動作の再現は臀部が鉛直下方に移動することで行った。解析には陽解法動的有限要素解析ソフト LS-DYNA を用いた。

### C. 研究結果

図 2 に屈曲解析の最終の状態を示す。得られた屈曲角度は 135 度であった。これまでに構築した 2 種類の解析モデル（簡易モデルと膝関節モデル）は、強制的に大腿骨コンポーネントを回転させることで屈曲動作を再現していたが、今回開発したバーチャル・シミュレータは自然な屈曲に近い動作状態が再現することに成功した。

図 3 に屈曲角度 45 度と 135 度での脛骨インサート表面でのミーゼス相当応力分布図を示す。45 度では応力集中は condyle 面のみで生じており、post 部にはまだ応力は作用していない。90 度になると大腿骨コンポーネント cam と post が接触し post 表面に応力集中が発生している。condyle 面にも応力が集中しているが、45 度の状態と比較するとより後方に移動していることがわかる。最大応力値は 45 度に比べると若干増加している。屈曲角度が 135 度になると post 表面において応力集中は大幅に増大する。condyle 面でも応力集中は増大しているが、外側に偏って分布しており、特にインサートのエッジの部分に応力が集中している。これは屈曲動作に伴い脛骨部が外旋するため、最終的には 15 度の外旋が生じていた。また、最大応力は 40MPa 程度にまで増大していた。

図 4 に最大相当応力値の変化を示す。condyle 面では 120 度付近までは最大応力は屈曲と共に次第に増加した後、135 度までの間に急激に増大する。これは脛骨の外旋の影響により脛骨インサートのエッジの部分で大腿骨コンポーネントと接触するためである。また、post 表面では 70 度付近

から急激に応力は増加し、最終的には 40MPa 程度にまで増加する。このような応力レベルは UHMWPE の降伏応力を大幅に超えており、深屈曲状態では容易に塑性変形が生じることが示唆される。

### D. 考察

今回の解析から得られた結果は、これまでに得られた簡易モデルや膝関節モデルの結果と類似しており、本バーチャル・シミュレータモデルの妥当性を示す結果となった。しかし、本モデルでは筋肉として大腿四頭筋のみを考慮しており、ハムストリングスは考慮していない。そのため、脛骨の外旋が生じたことが考えられる。実際の生体膝関節あるいは人工関節で置換した膝関節では、ほとんどの場合、脛骨は内旋を生じることが知られている。したがって、より自然な屈曲動作を成り立たせるためにはハムストリングスモデルの導入が必要不可欠である。ハムストリングスモデルについては、現在検討中である。

過去に開発した人工膝関節解析のための簡易モデルは、計算時間も比較的短く計算効率に優れるモデルであり、さらに、比較的簡単に様々な動作条件を考慮することが可能であるため、人工膝関節の基本的な動作確認とリスクアセスメントには大変有効である。次に開発した生体膝関節モデルは、骨と軟組織の力学的相互作用をある程度考慮しており、より生体に近づいたモデルであった。しかし、自然な屈曲動作を再現しているとは言い難い。今回開発したバーチャル・シミュレータは、機械構造部分を有するものの、屈曲動作自体はより自然な状態を再現することができた。これらの異なる 3 種類のシミュレーションモデルを組み合わせることで、より高度なリスクアセスメント手法の開発が可能となるであろう。

### E. 結論

実験的に用いられている膝関節シミュレータを基にバーチャル・シミュレータを開発した。バーチャル・シミュレータは、機械構造部、生体膝関節、人工関節から構成されている。筋肉としては大腿四頭筋の

みを考慮した。構築したモデルを用いて屈曲動作を模擬した解析を行った結果、しゃがみ込み状態での自然な屈曲動作を再現することができた。今後、ハムストリングスモデルを導入することで、より生体に近い屈曲動作が再現できることが期待される。このモデルを用いることで、生体内での人工膝関節の力学状態を明らかにし、脛骨インサートの摩耗や破損の原因を究明できる可能性があることが示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 東藤 貢, 長嶺隆二, 高橋祐二, 医療用画像に基づく 3 次元膝関節モデルの構築と人工膝関節の応力解析への応用, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, Vol.30, 2009, 339-346.

### 2. 学会発表

1. 東藤貢, 大野充孝, 日垣秀彦, 三浦裕正, 長嶺隆二, バーチャルシミュレータによる人工膝関節の応力解析, 第 36 回日本臨床バイオメカニクス学会, 2009, 230.
2. 大野充孝, 東藤貢, 日垣秀彦, 三浦裕正, バーチャルシミュレータによる人工関節置換膝の応力解析, 第 22 回バイオエンジニアリング講演会, 2010, 356.
3. M. Todo, Yuji Takahashi, Ryuji Nagamine, Shunji Hirokawa, Contact stress analysis for artificial knee joints during gait and flexional motions, World Tribology Congress 2009, 2009, 889.
4. M. Todo, L. Qian, R. Nagamine, W.J. Chen, T. Hara and Y. Sugioka, Comparison of Posterior Stabilized and Cruciate Retaining Type Knee Prostheses under Flexional Motion, The 22nd Annual Congress of International Society for Technology in Arthroplasty, 2009, A843.

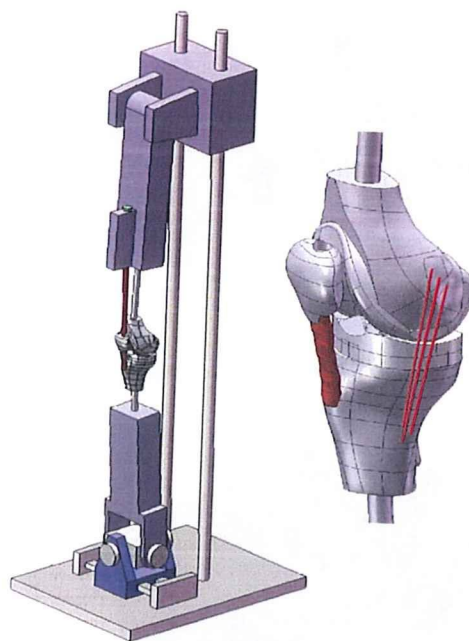


図1 バーチャル・シミュレータの外観

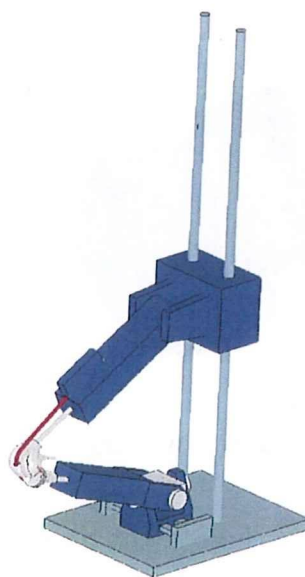
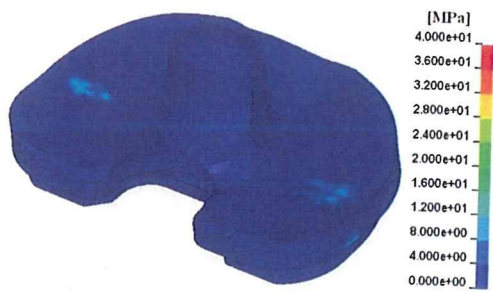
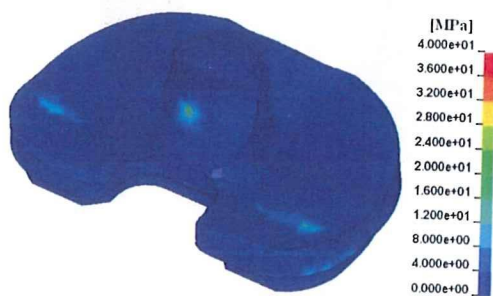


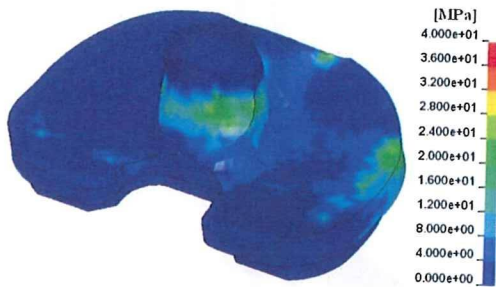
図2 最大屈曲状態でのバーチャル・シミュレータ



(a) 45 deg,  $\sigma_{\max}=13.5\text{MPa}$



(b) 90 deg,  $\sigma_{\max}=16.7\text{MPa}$



(c) 135 deg,  $\sigma_{\max}=39.7\text{MPa}$

図3 脛骨インサート表面での応力分布状態

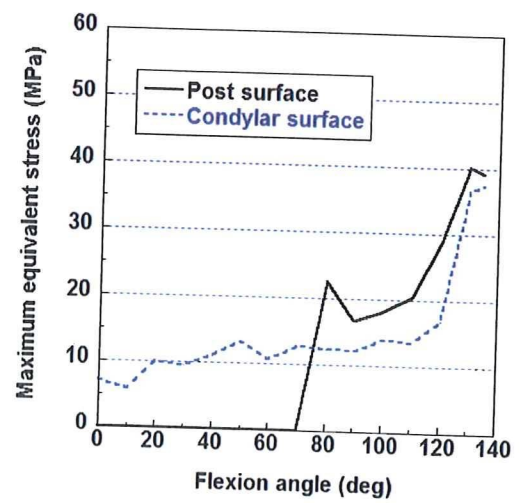


図4 最大応力の屈曲角度依存性

8. 流体力学による脳動脈瘤用ステントの  
リスクアセスメント手法開発

太田 信