1333 胸大動脈における lamellar unit 内の力学特性の差異に関する研究

Study on the difference in the mechanical properties of the lamellar unit in the thoracic aorta

○ 後藤泰輔 (東北大・工) 正 松本健郎 (東北大・工)

正 佐藤正明 (東北大・工)

Taisuke GOTO, Tohoku University, Aoba-yama 01, Sendai 980-8579

Takeo MATSUMOTO, Tohoku University

Masaaki SATO, Tohoku University

Key Words: mechanical property, lamellar unit, aorta

1. 緒言

従来、血管組織の力学的性質の解析は血管壁を均質であると仮定して行われたものがほとんどである。しかし実際には血管壁はエラスチン、平滑筋細胞、コラーゲンなどの複数の要素からできており、しかもそれらは互いに弾性率が大きく異なる¹⁾ため、細胞レベルの寸法で観察した場合、血管壁は決して均質であるとは考えられない。つまり、血管壁全体の挙動解析を詳細に行うためには、壁の不均質性を考慮することが必要である。

そこで本研究ではブタ胸部下行大動脈を用いて、血管半径方向に圧縮試験を行い、血管中膜の構成要素毎について圧縮特性の差を検討した。ここで構成要素としては lamellar unit を構成する2つの要素、すなわちエラスチンからなる弾性板 (elastic lamina, EL) と、平滑筋細胞およびコラーゲンからなる層 (smooth muscle layer, SML) を考えた。

2. 実験方法

2.1 試料の準備

試料として3頭のブタの胸部下行大動脈を用いた。食肉センタで屠殺直後の個体より血管を採取した後、周辺組織を切除し、生理食塩水中で冷凍保存した。実験時は血管を解凍し、直ちに長さ約15mmの円筒状試料を切り出し、半径方向に切り開いた。その後、平らにのばし、型を用いて9×9mm (壁厚2~3mm)の正方形試料を1つの円筒状試料から3~4個ずつ切り出した。

2.2 圧縮負荷

装置の概略を Fig.1 に示す。試料の圧縮はオートグラフ (AGS-50D, 島津) により行った。自作した圧縮用のインデンタと試料槽をオートグラフに取り付け、槽を室温の生理食塩水で満たした後、試料を槽底面の針 (長さ1mm, φ0.2mm) に刺すことで、槽底面に一点で固定した。試料壁厚 t_w は試料をセットする前にダイヤルゲージを用いて測定した。圧縮開始点は、試料とインデンタが接触し、圧縮力が35gfを示した位置とした。ロードセルの信号をA/D変換ボードを介して10Hzでコンピュータに取り込むことで圧縮力を求め、圧縮量 δ はクロスヘッドの移動速度と移動時間より求めた。

それぞれの大動脈から切り出した試料のうち1つは圧縮しない試料とした。残りの試料に対して圧縮速度0.5mm/minで、-0.1~0.5までのひずみを任意に負荷した。設定したひずみに到達後、そのままホルマリンで6時間以上固定した。次に圧縮力を解放し、1日以上経過後、固定後の壁厚 t_w をダイヤルゲージで測った。その後試料を薄切し、HE染色を施した。未圧縮の試料も同様に固定、染色をした。

2.3 弾性板および平滑筋と細胞の層の圧縮ひずみの算出

作製した組織標本を蛍光観察 (励起光520~550nm, 観察波長580nm以上) することによって、エラスチンの自己蛍光像を得た。観察は中膜を半径方向に内膜側 (sub-intima), 中央部 (mid-wall), 外膜側 (sub-adventitia) の3つの領域に分け、それぞれにつき5箇所で行った。この観察像をコンピュータに取り込み、画像解析ソフト NIH image で二値化し、二値化像をもとに様々な圧縮率における EL と SML の平均厚さ (それぞれ無負荷状態で t_{EL}^c と t_{SML}^c , 圧縮負荷後 t_{EL}^f と t_{SML}^f) を算出した。

ところで Fung ら²⁾によると、引張りを負荷したままのエラスチンをホルマリンで固定しても、負荷を解放すると引張り量の50%程度弾性回復する。つまり今回の組織標本は、圧縮力を解放した際の弾性回復を無視できない。そこで、圧縮中の EL と SML の平均厚さ (それぞれ t_{EL}^c と t_{SML}^c) を以下の方法で推定した。

まず圧縮中の壁厚 t_w^c と弾性回復後の壁厚 t_w^f の比がそれぞれの lamellar unit の厚さ (圧縮中 $t_{EL}^c + t_{SML}^c$, 弾性回復後 $t_{EL}^f + t_{SML}^f$) の比と等しいとする。

$$t_w^c : t_w^f = (t_{EL}^c + t_{SML}^c) : (t_{EL}^f + t_{SML}^f) \dots \dots \dots (1)$$

次に圧縮中の各層において、非線形性を考慮した応力—ひずみ関係 $\sigma = E(\epsilon) \epsilon$ (σ は応力, $E(\epsilon)$ は割線弾性率) が成り立ち、さらに負荷されている圧縮応力が等しいとすると、

$$\gamma(\epsilon_w^c) \frac{t_{EL}^c - t_{EL}^f}{t_{EL}^f} = \frac{t_{SML}^c - t_{SML}^f}{t_{SML}^f}, \quad \gamma(\epsilon_w^f) = \frac{E_{EL}^f(\epsilon_{EL}^f)}{E_{SML}^f(\epsilon_{SML}^f)} \dots \dots (2)$$

となる。ただし、 E_{EL}^f , E_{SML}^f はそれぞれホルマリン固定をした EL および SML の割線弾性率, ϵ_w^f , ϵ_{EL}^f , ϵ_{SML}^f はそれぞれ血管壁全体, EL, SML の圧縮下のひずみでホルマリン固定後、除荷した状態を基準とするものである。

式(1), (2)より、圧縮中の EL および SML の厚さ (それぞれ t_{EL}^c , t_{SML}^c) は、

$$t_{EL}^c = \frac{\frac{t_w^c}{t_w^f} (t_{EL}^f + t_{SML}^f) - t_{SML}^f (1 - \gamma)}{1 + \frac{t_{SML}^f}{t_{EL}^f} \gamma} \dots \dots \dots (3)$$

$$t_{SML}^c = t_{SML}^f \left\{ \gamma \left(\frac{t_{EL}^c}{t_{EL}^f} - 1 \right) + 1 \right\} \dots \dots \dots (4)$$

となる。式(3), (4)より壁全体, EL, SML の試験開始前を基準とした圧縮中のひずみをそれぞれ $\epsilon_w^c = t_w^c / t_w$, $\epsilon_{EL}^c = t_{EL}^c / t_{EL}$, $\epsilon_{SML}^c = t_{SML}^c / t_{SML}$ として算出する。なお t_w は無負荷状態の壁厚 t_w から圧縮量 δ を引いて求め、 γ は次項で求めた。

2.4 γ の算出

大部分がエラスチンからなるヤギ項韌帯およびブタ胸大動脈を無負荷状態でホルマリン固定した後、圧縮試験を行い EL, SML それぞれのホルマリン固定後の弾性率の比を推定した。項韌帯は前処理として1時間煮沸することにより組織内のコラーゲンを溶解させ、ほぼ100%エラスチンの組織とした。この組織をホルマリンで6時間以上固定し、試料厚さをダイヤルゲージで計測、その後、圧縮試験を行った。圧縮試験から得られる応力—ひずみ線図は非線形を考慮して、4次式 $\sigma_{EL} = f(\epsilon'_{EL})$ で近似した。次に胸大動脈も同様にホルマリン固定し、壁厚 l_w の計測および圧縮試験を行い、得られた応力—ひずみ線図を4次式 $\sigma_w = g(\epsilon'_w)$ で近似した。次に壁全体の圧縮変位量 $l_w \epsilon'_w$ が、EL および SML の圧縮変位量の合計 $l_{EL} \epsilon'_{EL} + l_{SML} \epsilon'_{SML}$ (l_{EL} , l_{SML} は EL および SML の厚さ) に等しいと仮定すると、

$$l'_w \cdot \epsilon'_w = l'_{EL} \cdot \epsilon'_{EL} + l'_{SML} \cdot \epsilon'_{SML} \quad (5)$$

となる。また血管壁に ϵ'_w のひずみを負荷した時の l'_{EL} に対する l'_{SML} の比を N とすると、

$$l'_{SML} = N \cdot l'_{EL} = \frac{l'_{SML}}{l'_{EL}} l'_{EL} \quad (6)$$

が成り立つ。式(5), (6)を考慮すると γ は

$$\gamma = \frac{E'_{EL}(\epsilon'_{EL})}{E'_{SML}(\epsilon'_{SML})} = \frac{P/\epsilon'_{EL}}{P/\epsilon'_{SML}} = \frac{\epsilon'_{SML}}{\epsilon'_{EL}} = \frac{(1+N)\epsilon'_w - \epsilon'_{EL}}{N\epsilon'_{EL}} \quad (7)$$

となる。ここで任意の ϵ'_w の時の σ_w を $\sigma_w = g(\epsilon'_w)$ より求め、 $\sigma_{EL} = \sigma_w$ となる ϵ'_{EL} を $\sigma_{EL} = f(\epsilon'_{EL})$ より求めた。この方法により、任意の ϵ'_w に対する ϵ'_{EL} を求め、両者を式(7)に代入して、 γ を求めた。

3. 結果および考察

Fig.2 に無負荷時と圧縮負荷時の二値化蛍光像の典型例を示す。黒の領域 (SML) が白の領域 (EL) よりも、より圧縮されていることが分かる。

Fig.3 に無負荷時と圧縮時の内膜側、中央部、外膜側それぞれの EL, SML 厚さの典型例を示す。いずれの条件でも3箇所の間には有意な差は見られなかった。そこで、以後3箇所の平均を取り、EL, SML の圧縮特性の検討を行った。

様々な程度に圧縮された試料について、横軸に壁全体のひずみを、縦軸に EL, SML それぞれのひずみを取った結果を Fig.4 に示す。点線は試料を均質、すなわち $\epsilon_w = \epsilon_{EL} = \epsilon_{SML}$ と仮定した時の圧縮特性を示す。この図から SML の方が EL よりも約1.5倍圧縮されやすいことが分かる。つまり SML の方が EL よりも圧縮弾性率が約2/3になることが予想される。SML は平滑筋細胞が主体で若干のコラーゲンや基質を含む一方、EL はエラスチンのみからできている。平滑筋細胞、コラーゲン、エラスチンの弾性率はそれぞれ 0.01~0.1MPa, 1MPa, 0.6MPa と報告されており、この違いが SML と EL の弾性率の違いを生じたと考えられる。

本研究より、lamellar unit 内に力学的な差のあることが分かった。このような不均質性により、lamellar unit 内の残留応力は弾性板 (EL) とコラーゲンおよび平滑筋の層 (SML) で異なる可能性が考えられる。

参考文献

- 1) Fung YC: Biomechanics, Springer-Verlag, 202, 1993
- 2) Fung YC: Biomechanics, Springer-Verlag, 243-48, 1993

Fig.1 Experiment set-up for radial compression test

Fig.2 Fluorescent images of cross sections of no load (a) and compressed (b) porcine thoracic aortas. Elastic lamina are shown in white and smooth muscle layers black. Bar = 10µm.

Fig.3 Thickness of elastic lamina (EL) and smooth muscle layer (SML) in a no-load (a) and a compressed (b) porcine thoracic aorta.

Fig.4 Difference in compression strain between elastic lamina (EL) and smooth muscle layer (SML) in porcine thoracic aortas compressed radially to various extent.