肝臓組織の損傷挙動に及ぼす負荷速度の影響*

高橋 学^{*1}, 黄木 景二^{*1}, 田中 大介^{*2}Influences of Loading Rates on Damage Behavior
of a Liver TissueManabu TAKAHASHI^{*3}, Keiji OGI and Daisuke TANAKA^{*3} Graduate School of Science and Engineering, Ehime University,
3 Bunkyo-cho, Matsuyama-shi, Ehime, 790-8577 Japan

Effects of loading rate on damage behavior in a pig liver loaded in compression were experimentally investigated. First, we developed a macroscopic damage model of liver cells or hepatocytes. Next, microscopic damage mechanism at the cell level was discussed through in-situ observation. Yield stress and strain were decreased with increasing strain rate. This behavior was ascribed to difference in pressure among individual liver components. The stress in a liver specimen subjected to a constant strain completely disappears after a certain period of time. For low strain rate, all the cells can endure high yield stress and strain because there is enough time for the individual cells to equilibrate the pressure. In contrast, for high strain rate, the yield stress and strain became lower since the cells cannot equilibrate the pressure due to limited intercellular blood flow during a short time. An interlobular connective tissue (Glisson's sheath) of a hepatic lobule was not easily damaged in the compressive field as it is stronger than the internal tissue. Consequently, the first failure occurred in the weakest central vein.

Key Words: Liver, Damage Behavior, Loading Rate, Compression, Relaxation

1. 緒 言

肝臓ガン完治のための最も効果的な方法として切離手術に注目した。この手術方法は、肝臓内に張り巡っている大小の血管を一本ずつ結紮、あるいは凝固させながら行うため、長い手術時間を要し、患者・医師双方とも負担を強いられている。そのため、医療技術の高度化が社会的な課題になっており、医療と工学の融合技術によって肝臓ガン切離手術の問題を解決する必要がある。そこで、手術における安全性、低侵襲性を高めるために多数の血管を一括して容易に止血する手法の開発が進められている。そこで、図1に示すような圧迫型デバイスを肝臓上下に装着し、圧迫することにより止血できるデバイスを開発している。切離する部分(ガン部)を決定し、ガンが正常肝臓に転移しない部位で切離ラインを決めた後、切離ラインの血液上流を肝臓組織の上下から圧迫することによって血管を潰し、血流を止めた状態でガン部を切離することができる。

Fig.1 Pressure hemostasis technique with compression belts

そこで、本圧迫型デバイスの開発にあたりいくつかの乗り越えなければならない点がある。止血器具は生体内に留置することを前提として考えているため、生体適合性の材料を選定する必要があるが、その際このデバイスの機能を十分満足する機械的特性を有する材料でなくてはならない。さらに、デバイス開発において、全ての条件で試作し実験することは困難であることから、数値シミュレーションを行い、最適な材料の機械的性質および構造・形状を求めることが必要である。しかしながらそれらの条件を導く前に、軟組織で構成される肝臓の機械的性質を把握しなければならない。これまでに引張、圧縮負荷下の機械

* 原稿受付 2009年10月19日。

^{*1} 正員、愛媛大学理工学研究科(〒790-8577 松山市文京町3)。

^{*2} 正員、(株)ジェイテクト(〒542-8502 大阪市中央区南船場)。

E-mail: takahashi@eng.ehime-u.ac.jp

特性⁽¹⁾およびリラクセーション特性⁽²⁾について報告されている。著者らも第一報⁽³⁾において、圧縮試験方法とその評価法についてヒト肝臓に類似のブタ肝臓を用いて種々の圧縮試験を実施し、試験法を確立した。さらにその試験法に基づき、ブタ肝臓の機械的性質の統計的処理を用いて検討したが、データ数が少なく、損傷過程の解明も十分でない。

本研究では、豚肝臓の圧迫による肝細胞損傷の負荷速度の影響および圧迫後のリラクセーション特性について詳細に調査した。さらに、ミクロなその場観察が可能な試験装置を開発し、細胞レベルでの損傷メカニズムを解明することによって、肝臓圧迫部のマクロとミクロの損傷モデルを考案した。

Fig.2 Schematic illustration of a liver, from which x-, y- and z-specimens are cut out

Fig.3 Schematic illustration of a circulation system

Fig.4 Schematic illustration of compression test

2. 実験方法

2・1 供試体 実験当日、屠殺後すぐに摘出された豚の肝臓を5℃以下に保存して輸送し、屠殺後48時間以内で試験に供した。肝臓の機械的性質は肝臓内部の血管の大きさ、方向、数などが影響することが予想されるため、肝臓から種々の方向の試験体を採取した。図2に3種類の試験体の採取方向・座標系を示す。下大静脈方向に繋がる静脈をZ方向、その血管に垂直な切離面をX-Y平面と定義した。

(a) Schematic illustration of in-situ observation

(b) In-situ observation system

Fig.5 Experimental setup for in-situ

(i) Sampling parts of the liver specimen

(a) With serosa (b) Without serosa

(ii) Observed surfaces of each specimen

Fig.6 Damage observations of hepatic lobule

試験片をより体内に近い状態を保持するため、図3のような生理食塩水循環装置を用いて、肝臓内に生理食塩水を流し込んだ。この装置は容器内に生理食塩水を入れ、ヒーターを用いて35℃の一定温度に制御する。次に、その生理食塩水をポンプで汲み上げ、肝臓内に流し込む。そして、肝臓内を循環した後、再び容器内に生理食塩水が流れ戻るシステムである。肝臓内の温度が35℃の定常状態になった後、試験片を採取した。

2・2 圧縮試験 医療用メスにて、圧縮面が 25×25 の直方体試験片を採取した。試験片採取の際に、大きな血管は空洞となりすべりを生じる可能性があるため、1mm以上の血管を避けて採取した。また、圧縮試験は図4の圧縮試験を用い、圧縮方向が肝臓のY方向となるように固定した。負荷速度5, 15, 25, 35, 45 mm/minで試験を行い、試験片から熱が奪われるのを防ぐため、試験環境温度は体内に近い35℃とした。なお、測定された荷重は試験片初期の断面積を用いて公称応力とし、また、ひずみ量は無負荷で設置された試験片初期高さをを用いた公称ひずみとして以下に示す。

2・3 リラクセーション試験 圧縮実験と同様の試験片を用いた。速度2 mm/minで負荷した後、初期圧縮ひずみ ε_{ini} (0.2, 0.3, 0.4)に達すると圧縮負荷を止め、その状態から緩和応力と時間を測定した。試験は応力が定常状態になるまで続けた。また、緩和に至るまでの時間内で肝臓表面が乾燥や組織変化が生じる可能性があるため、生理食塩水中にて試験を実施した。試験回数は各々のひずみで5回行い、緩和試験中の生理食塩水温度を一定値(35℃)に保った。

2・4 圧縮負荷時のその場観察 圧縮場における肝小葉の挙動を観察するために、液中で試験できる小型圧縮試験機を開発した。図5に示すように装置はアクチュエータ(KOHZU, SC-200)を利用した圧縮機構と容量50N(精度 $\pm 0.5\%$)のロードセルから構成され、肝臓を液中(NaCl)で高精度圧縮することができる。治具を用いて圧縮面と試験片のすべりを抑制したが、圧縮面以外は拘束しなかった。また、試験中に上部からその場観察ができるようCCDカメラを取り付けた顕微鏡を設置した。実験条件は、圧縮速度を0.2 mm/secとし、圧縮変位0.4mm毎に肝小葉の様子をその場観察した。この圧縮試験機を用いて得られた応力-ひずみ線図は第一報⁽³⁾と同様の非線形挙動を示した。

その場観察する面は、図6に示すように観察面に漿膜が存在する状況(肝小葉外部から観察)および観察

面の肝小葉を切離した状況(観察面が切離断面)の2通りとした。前者は肝臓外部組織である漿膜が存在することで、圧縮場における変化の様子を肝小葉外部から観察を行うことができる。後者は切離断面を観察することで肝小葉の内部の変化を観察することができる。また、寸法 $10 \times 14 \times 8$ mmの試験片を採取し、すべりの原因となる1mm以上の血管を除いた。

3. 実験結果

3・1 負荷速度試験 負荷速度試験で得られた公称応力-公称ひずみ線図を図7に示す。第一報⁽³⁾で報告した挙動と同様に、圧縮初期段階では非線形挙動を示した後、線形挙動を示し、最大圧縮応力に達すると応力が急激に降下した。この点における応力を降伏応力、降伏ひずみと定義する。降伏応力 σ_y 、降伏ひずみ

Fig.7 Stress-strain curves in several strain rates

Fig.8 Relationship between yield stress and strain

Fig.9 Relationship between yield strain and strain

Fig.10 Relation of strain rates to mechanical characteristic parameters of A and B

ϵ_y に対するひずみ速度の関係をそれぞれ図8および図9に示す。ひずみ速度の増大とともに σ_y および ϵ_y は減少する傾向を示した。損傷は応力-ひずみ線図上の線形域（傾きが最も大きい）で生じるため、損傷発生応力は損傷発生ひずみと比較してばらつきが大きい。

次に、接線弾性率 E_s （応力-ひずみ曲線の応力勾配 $d\sigma/d\epsilon$ ）と応力 σ_a の関係は、

$$\frac{d\sigma}{d\epsilon} = E_s = A\sigma_a + B \quad (1)$$

として一次式で表すことができる⁽³⁾。ここでAおよびBは肝臓特有の力学特性を表すパラメータであり、Aは肝臓の硬化率、Bは負荷直後でのヤング率である。パラメータA、Bそれぞれについてひずみ速度に対する関係を図10に示す。図中の曲線は最小二乗法による近似曲線である。低ひずみ速度域ではA、Bともほぼ一定値を示すが、ひずみ速度 10^{-2} s^{-1} 以上において、Bは急激に増大し、Aは減少傾向を示した。

3・2 リラクセーション試験 リラクセーション試験の結果を初期応力 σ_0 で基準化した応力と時間の関係として図11に示す。時間経過の初期段階で応力は急激に降下した後、緩やかに減少するリラクセーション挙動が認められた。また、 ϵ_{mi} が大きくなるとともに応力緩和量は小さくなる傾向を示した。

Fig.11 Relaxation curves for several initial strains

3・3 肝臓細胞のその場観察 観察面に漿膜が存在する肝小葉を図12(a)に示す。試験片に圧縮ひずみ ϵ を与えていくと、(b)に示すように、 $\epsilon = 0.33$ を超えたとき肝小葉内部で赤い斑点が生じ始め、その後、徐々に斑点が小葉に広がる現象が確認された。観察面が切離断面である肝小葉の様子を図13に示す。 ϵ をさらに増加させていくと、(b)のように $\epsilon = 0.35$ で肝小葉の内部から血液が流出し、その後、圧縮ひずみの増加とともに血流量も増加した。圧縮段階における肝小葉の様子から、肝小葉内部の血流の変化は確認されたが、壁面（肝小葉間結合組織）での損傷は観察されなかった。

その場観察によって試験片内部を観察することは困難であるため、圧縮負荷の数段階で負荷を中断し、試験片内部を観察した。その結果を図14に示す。(a)は降伏ひずみ ϵ_y を与えたとき、(b)は ϵ_y 以上のひずみを与えたときの肝小葉の様子である。(a)の肝小葉内部の中央付近に浅いくぼみが確認でき、(b)ではその影がさらに顕著に現われた。一方、肝小葉組織を包み込む壁状の結合組織（グリソン鞘）は残存しており、破裂な

Fig.12 Hepatic lobule with serosa during compressive loading.

Fig.13 Hepatic lobule without serosa during compressive loading.

Fig.14 Internal state of a liver at two strains.

Fig. 15 Illustration of stress-strain behavior at low and high strain rates.

Fig. 16 Schematic illustration of a hepatic lobule ⁽⁴⁾

どを起こした形跡は認められなかった。

4. 考 察

4・1 圧縮場における肝臓組織の損傷メカニズム

一般の鉄鋼材料では、負荷速度が増大するとともに縦弾性係数はほとんど変化せず、降伏応力が増大する。また、粘弾性の部類に属するプラスチック材料では、負荷速度が増大するとともに降伏応力が増加し、降伏ひずみが減少する傾向を示す。しかしながら、粘弾性特性を有する肝臓の圧縮試験では図 15 に示すように負荷速度増大に伴い、降伏応力と降伏ひずみが共に減少した。このことは肝臓試験片の応力ひずみ挙動が試験片に含まれる水分の含有量、環境、水分の移動量、試験片の温度などに影響されることを示唆している。

そこで、小葉内に入出入りする血液の流れと構造に注目し、肝臓の圧縮場における損傷メカニズムを検討した。

図 16 に肝小葉の構造図を示す。圧縮試験のその場観察の結果より、肝小葉間結合組織は内部組織と比べ

Fig. 17 Macroscopic damage model of hepatocytes.

Fig. 18 Microscopic damage model of hepatic lobule responsible for the effect of strain.

Fig. 19 Microscopic damage model of hepatic lobule to outflow associated with loading rates.

高強度であることが明らかになった。肝小葉は高強度の外部組織が水分量の多い肝細胞を包み込み、各々の肝小葉の区画分けをしている。つまり、肝小葉外部組織は、個々の肝小葉の区画分けと同時に肝小葉同士の結合組織としての働きもある。さらに、肝小葉間結合組織（グリソン鞘）は、肝動脈や門脈を包み込む鞘の役割を果たし、肝小葉外部から根っこ状態に肝細胞を取り巻いているため、隣り合った肝小葉の結合力は強く、肝小葉同士のすべりや肝小葉間結合組織の破壊が観察されなかったものと考えられる。一方、斑点やくぼみが生じた肝小葉内部は柔らかい肝細胞で構成されており、グリソン鞘の影響が少ないため容易に変形し、優先的に損傷が生じたと推測される。

4・2 負荷速度に対するマクロ・ミクロ損傷モデルの考え方

前節で推測した損傷メカニズムに基づき、ひ

ずみ速度依存性を説明するマクロモデルを図 17 に示す。肝臓は無数の肝小葉で組織されており、その肝小葉内に満たされる血液・水分量は様々である。低速で負荷される場合、損傷に至るまでに個々の試験片内の圧力差が平衡状態になるまでの時間が十分にある。そのため、細胞間および肝小葉間で血液が移動し、巨視的に均一な状態へと変化することで外界からの大きな圧縮応力とひずみに耐えることができる。したがって、十分な水分移動時間があるリラクセーション試験では応力緩和が生じる。一方、高速で負荷される場合、平衡状態に至るまでの時間が短いため、細胞間の血液の移動が制限される。その結果、水分量の多い特定の肝小葉内の圧力が上昇して損傷が発生するため、外界からの小さな圧縮応力とひずみによって損傷するものと推察される。

以上のようにひずみ速度と損傷発生応力は密接に関係している。圧縮場における肝臓内の巨視的な水分移動を説明するために、肝小葉に着目した微視的な損傷モデルの考え方としてひずみの影響を図 18 に示す。圧縮初期段階では下大静脈から肝小葉内の水分が流出するため応力-ひずみ線図は非線形となる。さらに圧縮すると静脈圧迫の影響で外部に流れ出る水分量が減少する。そのため、肝小葉内部の圧力が高まり、応力-ひずみ線図は線形に近づく。そして、肝小葉内部圧力が中心静脈を塞ぐ肝細胞の耐圧力に達したときに、中心静脈周辺肝組織を起点として内部組織は外部へと勢いよく排出される。その結果、応力は急降下し、肝臓は損傷すると考えられる。

巨視的な速度依存型損傷モデル (図 17) に基づき、負荷速度に起因した流出量に対する微視的な損傷モデルの模式図を図 19 に示す。圧縮場における損傷は肝小葉内部の水分が劇的に下大静脈から流出することで生じる。しかし、肝臓には血液循環機能があるため、肝小葉内の水分を外部に出す流出許容量が存在するはずである。そのため、低速で圧縮すると非線形領域では(a)のように流出許容量内で肝小葉内の水分が流出することができるため、内部の圧力が高まるのに時間がかかる。その結果、損傷ひずみは大きくなる。一方、高速で圧縮すると、(b)のように流出許容量を超えてしまうため、内部の圧力が高まりやすくなり損傷ひずみは小さくなる。そのため肝臓の強度は負荷速度に依存する。

以上のような損傷モデルを考えることができ、本デバイス開発研究以外にも自動車等の安全設計シ

ミュレーションなどにおいて衝撃負荷が肝臓に与える影響を見出すための一つの考え方として利用が可能であろう。

5. 結 言

肝臓組織の圧縮試験およびリラクセーション試験を行い、負荷速度の影響を調べた。微視的なその場観察を行い、損傷メカニズムと損傷モデルを検討した。その結果、以下のことが明らかになった。

- 1) ひずみ速度の増大とともに降伏応力および降伏ひずみは減少する。
- 2) 肝臓試験片に一定ひずみを与えると、リラクセーション挙動が観察された。これは肝小葉内の水分の流出が原因である。
- 3) 損傷過程のモデルの考え方として、低速で負荷される場合、損傷に至るまでに個々の細胞内の圧力差を平衡状態にする時間が十分あるため、全細胞は高い圧縮応力とひずみに耐えることができる。一方、高速で負荷される場合、細胞内の圧力が平衡するまでの時間が短いため、細胞間の血液の移動が制限され、低い圧縮応力とひずみとなる。
- 4) 肝小葉の小葉間結合組織 (グリソン鞘) の強度は内部組織よりも大きいいため、内部の圧力が上昇すると中心静脈を含めた内部組織から損傷が始まる。

文 献

- (1) Ishihara, T., Nakahira, Y., Furukawa, K., "Measurement of the Mechanical Properties of the Pig Liver and Spleen", Proceedings of JSME annual meeting, 2000-2(2000), pp.209-210.
- (2) Sakuma, I., Nishimura, Y., Chui, C.K., Kobayashi, E., Inada, H., Chen, X., Hisada, T., "In vitro Measurement of Mechanical Properties of Liver Tissue under Compression and Elongation Using a New Test Piece Holding Method with Surgical Glue", Surgery Simulation and Soft Tissue Modeling, 2673, pp. 284-292(2003).
- (3) Takahashi, M., Ogi, K., Tanaka, D., Nakanishi, T., Wata-nabe, Y., Okabe, N., "Mechanical Properties of the Liver under Compression Loading", Transactions of the Japan Society of Mechanical Engineers, Series A, Vol.71, No.702(2005), pp.353-358.
- (4) Wakui, M., Kaneda, K., "Structure, function and materials of the human body IV, Liver, Gallbladder, Pancreas", Japan Medical Journal, (2001), p.10 (in Japanese)