靱帯の crimp pattern の観察

— ラット MCL を用いて —

久留米大学整形外科

副 島 崇・堀 部 秀 二

田 中 信 博・井 上 明 生

久留米大学第一解剖

山 木 宏 一・宮 崎 道 雄

An Observation of Crimp Pattern in a Rat Medial Collateral Ligament

by

Takashi Soejima, Shuji Horibe, Nobuhiro Tanaka
and Akio Inoue

Department of Orthopedic Surgery, Faculty of Medicine,
Kurume University, Fukuoka, Japan

Kouichi Yamaki and Michio Miyazaki

Department of Anatomy, Faculty of Medicine,
Kurume University, Fukuoka, Japan

Changes in crimp pattern were observed under video microscope during tensile and stress relaxation tests. Crimp unfolded with increasing stress and vanished at 1.4% strain, but refolded with decreasing stress reappearing at 4.24% strain. No change was found in the relaxation phase. After relaxation crimp pattern was rougher than before.

We speculated that stress relaxation makes changes in the microstructure of fiber bundles.

結 言

靱帯を構成する膠原線維は一定の振幅と周期を持った波状構造を呈している。この構造は crimp pattern (以下, crimp と略す) と呼ばれ, さまざまな靱帯, 腱組織においてその振幅, 周期に異なった特長を示す。それぞれの組織は引っ張り強度や応力などの力学的特性にも違いを呈しており, crimp がなんらかの形で力学的特性に関与していることが予想される¹⁾。

crimp と靱帯の力学的特性についての初期の研究に, 落射式偏光顕微鏡を用いて引っ張り試験中の crimp の変化を観察した Viidik²⁾ の報告がある。彼の報告では, 応力-歪み曲線の非線型部位のごく初期に

crimp が引き延ばされ, 消失し, 弾性域では観察されないとしている。これに加え, Diamant ら³⁾ は加齢によって, crimp の周期が増加し, 応力-歪み曲線の非線型部位が急な立上りを示すようになることから, crimp の形態がこの非線型部位を特徴付けていると述べている。しかし, いずれも crimp の挙動を経時的に観察したとは云えず, 応力緩和による影響についての記載はない。今回我々は, 荷重下の crimp の変化を経時的に観察し, 応力緩和による影響について検討したので報告する。

方 法

本実験は顕微鏡下の引っ張り試験を可能とする特製

の卓上式引っ張り試験器（久留米工業大学作製）と非接触型のビデオ顕微鏡からなる実験システム（図1）を使用して行った。

1. 試験片の作成

実験試料として、ウイスターラット（雄，体重 450 g，一匹）の右脚内側側副靱帯を用いた。ラットをエタノール吸入にて屠殺し，右脚を股関節より離断後，軟部組織を剥離し，大腿骨—内側側副靱帯—脛骨の複合体を作成した。crimp の観察を容易にするため，双眼顕微鏡（16 倍）下に靱帯表層の paralignmentous tissue を靱帯を傷つけないように注意深く剥離した。作製した資料は，特性の引っ張り試験機に靱帯の長軸と引っ張り軸ができるだけ一致するように特製のボルトを使用し固定し，以下の実験を行った。

2. 張引っ張り試験

断面積は横断面を楕円形と仮定し，無負荷時の試料中央部の幅，厚みをマイクロメーターを用いて，各々 3 回ずつ測定し求め，その平均値を使用した。個々の試料の重さと同等の荷重の掛かった状態でのクランプ間距離を初期長とし，変位の測定にはクランプ間距離を用いた。

引っ張り試験は，歪み 5 % まで引張り，その状態で 30 分間応力緩和を行った後，元の状態に戻した（図 2）。この間，ビデオ顕微鏡（×200）を用いて，靱帯表層の crimp を観察しビデオに記録した。

図1 実験システム

特製（久留米工業大学製）の引っ張り試験機にて引っ張り及び応力緩和試験を行い，200 倍のビデオ顕微鏡で靱帯表層の crimp pattern の変化を観察した。得られた顕微鏡画像は，実験の全過程を通じビデオレコーダーに記録した。

3. 解析

記録した画像をコンピュータにより解析した。特定の crimp の画面上の輝度の変化をグラフ化し，その解析波形のピーク間距離を crimp の周期とした（図 3）。また，波形の振幅がほぼ平坦となった時点を crimp の消失点とし，歪み 5 % まで引張したとき，応力緩和中，歪み 0 % まで戻したときの 3 つの相で，crimp の形態の変化について検討した。

図2 引っ張り及び応力緩和試験のプロトコール
歪み 0 % から 5 % まで引っ張り，その状態で 30 分間維持し応力緩和を行い，歪み 0 % まで戻した。

図3 コンピューター画像解析

特定の crimp pattern を選び，その部位の画面上の輝度の違いをグラフ化した。グラフ縦軸は輝度を，横軸は画素数を表している。このグラフ上の振幅がなくなった時点を crimp の消失点とした。

a) 引張時

b) 応力緩和中

c) 減張時

図4 crimp pattern の変化

- ～5%まで引張すると, crimp は徐々に広がり歪み 1.48%で消失した.
- 30 分間の応力緩和中, crimp は消失したまま何の変化も見られなかった.
- 5～0%まで至みを減ざると, crimp は歪み 4.24%で再び出現したが, その形態は, 張引前と比べやや不整で粗な印象を受ける. (すべて同一の crimp を観察した.)

結 果

crimp の変化を図 4 に示す。靱帯を歪み 5 % までの引張した時、crimp は歪みが増加するに従い、徐々にその周期を広げ、歪み 1.48 % で消失した。30 分間の応力緩和中は、crimp は消失したままでなら変化は見られなかった。歪みを減ずると、歪み 4.24 % で再出現した。応力緩和前後で crimp の消失時と再出現時の靱帯の歪みを比較すると、それぞれ 1.48 %、4.24 % と明かに異なっていた。一方、応力は、2.74 Mpa、3.49 Mpa とあまり差を認めなかった(図 5)。また、応力緩和前後の crimp を比較すると、前者では比較的良好に整った配列を示しているのに対し、後者では一部乱れ全体に不整で粗い像を示していた。

図 5 応力-歪み曲線

縦軸に応力を、横軸に歪みを取り、実験全過程の応力、歪みの変化を表した。応力緩和によるエネルギー損失のため hysteresis loop を描いていない。crimp 消失時と出現時の歪みはそれぞれ 1.48 %、4.24 % と違いが見られる。

考 察

crimp の形態と靱帯の力学的特性の関係について、Horibe ら³⁾は、移植同種腱を用いた実験で、再建靱帯の力学的特性の劣化の原因の一つに crimp pattern の乱れをあげている。また、Diamant ら²⁾は、陳旧性の損傷靱帯の crimp が正常よりもその周期が小さいことから、crimp の形態が膠原線維の成熟度に依存し、力学的特性を修飾するものと推測している。

今回の我々の実験では、crimp は引張によって、徐々にひろがり、歪み 1.48 % で消失した。これは、Stouffer ら⁴⁾の報告とよく一致する。しかし、30 分の応力緩和

後、crimp の復帰は、歪み 4.24 % と大きくかけ離れていた。このことは、応力緩和前後で、crimp が異なった力学的環境下に屈曲伸展を生じていることを示している。また、前後の crimp の形態が明かに異なっていたことから、応力緩和によって crimp の形態的变化が生じ、その力学的特性が変化したと推測された。

しかしながら、本実験は実験数が一例と少なく、今後、さらに検討が必要である。

結 語

1. 顕微鏡下に引張り試験を行い、靱帯表層の crimp pattern の変化を観察した。

2. crimp は負荷の増大と共に徐々にひろがり、歪み 1.48 % で消失した。

3. 30 分の応力緩和中、crimp は消失したまま何の変化も見られなかった。

4. crimp は負荷を減少すると歪み 4.24 % で再出現した。

5. 応力緩和後の crimp は一部不整で粗い像を呈した。

参 考 文 献

- 1) Amiel D., Billings Jr. E., Akeson W. H. : Knee Ligament. Structure, Function, Injury, and Repair, pp. 77-94. Edited by D. Daniel, et al. New York, Raven Press, 1990.
- 2) Diamant J., Keller A., Baer E., Litt M., Arridge R. G. C. : Collagen; ultrastructure and its relation to mechanical properties as a function of ageing. Proc Royal Soc Lond B, 180 : 293-315, 1972.
- 3) Horibe S., Shino K., Nagano J., Nakamura H., Ono K., Tanaka M. : Replacing the medial collateral ligament with and allogeneic tendon graft : an experimental canine study. J Bone Joint Surg [Br]., 72-B : 1044-1049, 1990.
- 4) Stouffer D. C., Butler D. L., Hosny D. : The relationship between crimp pattern and mechanical response of human patellar tendon-bone units. Transaction of the ASME J Biomech Engr., 107 : 158-165, 1985.
- 5) Viidik A. : Simultaneous mechanical and light microscopic studies of collagen fibers. Z anat Entwicklungsgesch., 136 : 204-212, 1972.