

矩形断面ピペットを使った生体軟組織弾性率の 測定に関する解析と実験*

大橋 俊朗*¹, 安部 裕宣*², 松本 健郎*¹
青木 隆平*³, 佐藤 正明*¹

Analytical and Experimental Studies on the Measurement of Soft Biological Tissue Elasticity using a Pipette with Rectangular Cross Section

Toshiro OHASHI, Hironobu ABE, Takeo MATSUMOTO,
Takahira AOKI and Masaaki SATO

A pipette aspiration technique has been developed to clarify the local anisotropic stiffness of soft biological tissues. This technique provides a simple and practical method of measuring an initial elastic modulus by comparing the slope of the pressure-deformation curve obtained from a finite element analysis with that obtained by experiment using a pipette to aspirate the tissue surface. In previous studies, linear numerical simulations were performed for circular cross-sectional pipettes using an axisymmetric model that is assumed to be isotropic and homogeneous. In this paper, the use of rectangular cross-sectional pipettes was proposed to parametrically evaluate the effects of anisotropic properties of living tissues on the measurement of their stiffness. The calculated results indicated that rectangular pipettes eliminated the effect of the modulus parallel to the pipette major axis. The aspiration technique with a rectangular cross-sectional pipette should be effective for clarifying the anisotropy of biological tissues. Experimental verification of this technique was performed for the canine ligamentum nuchae.

Key Words: Biomechanics, Anisotropy, Elasticity, Finite Element Method, Pipette Aspiration, Canine Ligamentum Nuchae, Local Stiffness

1. 緒 言

生体軟組織は材料非線形性および幾何学的非線形性を有する異方性粘弾性材料とみなされる。これらの性質は不均質な組織構造と密接な関係をもっている。例えば血管壁はおもに弾性線維、膠原線維、平滑筋細胞などから構成されており、各成分は異なった力学特性を有している上に不均質に分布している。このため一般的には軸および円周方向が半径方向よりも硬い異方性材料として取扱われる。また靱帯は弾性線維や膠原線維が長手方向に平行に配向しているため特に強い異方性を有する組織であり、近似的に1方向線維強化材料とみなすことができる。ところが従来の生体軟組織の異方性に関する研究では、組織を短冊状あるいはダンベル状に切り出して引張試験などにより組織全体の平均としての力学特性を求めたものが一般的である⁽¹⁾。このような従来の材料試験法により局所の異方

性を調べようとする場合、微小な試験片を切り出さなければならぬが、こうすると試験片の取扱いやチャッキングが困難になる。したがって生体軟組織の力学特性についてより詳しく理解するためには、摘出せずに測定することが望まれる。そのため従来の解析方法では不十分であり局所的な力学特性を知る簡便で新たな測定法が必要である。

著者らは、これまでに生体軟組織の局所弾性率の測定法としてピペット吸引法を提案しその実用性を確認してきた^{(2)~(6)}。ピペット吸引法とは、従来細胞単位レベルの簡便な弾性率測定法として利用されてきたマイクロピペット吸引法^{(7)~(9)}の原理を応用して、サブミリオード程度の領域の弾性率を求める方法である。既報では材料に等方性を仮定し、円形断面を有するピペットを用いた軸対称モデルについて有限要素法による数値シミュレーションを行い、測定時の諸条件が測定結果に与える影響を詳しく検討した⁽²⁾。実験では円形断面ピペットを動脈硬化家兎大動脈に適用し、病変部の弾性率は正常部に比べて有意に低いことを明らかにした⁽³⁾。またウシおよびブタ大動脈壁へ適用し、壁内の弾性率がウシでは内壁側から外壁側に向かって有意に低下するが、ブタではほぼ一定であり、これらの傾

* 原稿受付 1996年7月15日。

¹ 正員, 東北大学工学研究科(〒980-77 仙台市青葉区荒巻字青葉)。

² 東北大学大学院[現:東芝(株)]。

³ 正員, 東京大学工学系研究科(〒113 東京都文京区本郷7-3-1)。

向がそれぞれの組織像と密接な関係にあることを見出した^{(4)~(6)}。しかし解析対象に異方性があり独立な弾性定数が多い場合、従来の円形断面ピペットでは各方向の弾性率がどのような割合で測定されているのかについて十分に考慮した解析ができないなどの問題点があった。円形断面ピペットのみを利用して異方性弾性を表現することは非常に困難である。

そこで本報では、選択的に異方性弾性率を測定する方法として矩形断面ピペットの導入を提案し、有限要素法による数値シミュレーションからその有効性を具体的に検討した。矩形断面の場合、ピペット軸に垂直な面内の1方向の弾性率を排除できる点に特徴がある。縦横比が十分に大きい矩形断面のピペットを使い、その主軸方向を試料の異方性の主軸方向と一致させると、矩形長辺方向の吸引変形は無視できるために短辺を含む変形断面は長辺方向に近似的に一様になる。つまり長辺方向に変形が拘束された平面ひずみ状態とみなせるため、この方向の弾性率による変形の影響は無視できる。以上の観点のもとに二次元平面ひずみ状態を仮定した有限要素解析を行うとともに、イヌ項靱帯を対象として実験を行い、両方の結果を比較・検討した。

2. 解析および実験方法

2.1 ピペット吸引法の考え方 図1にピペット法の概念図を示す。試料表面にガラスピペットを接触させ、ピペット内に陰圧 ΔP を加えて試料の一部を吸引し、その変形量 L を側面から光学系を使って測定する。こうして実験的に得られる陰圧-変形量関係を、あらかじめ数値シミュレーションで求めておいた同様の関係と比較することで試料の弾性率を推定する方法である^{(2)~(6)}。この方法では、測定対象部分を周辺から

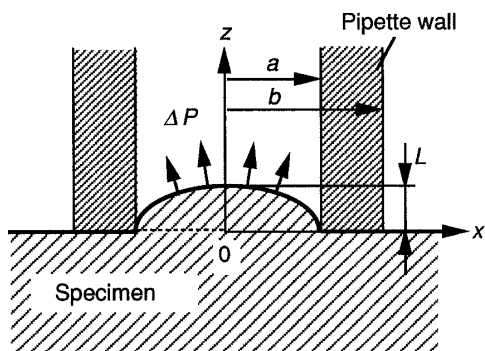


Fig.1 Schematic diagram of pipette aspiration with rectangular cross-sectional pipette. $2a$, inner width of pipette; $2b$, outer width of pipette; ΔP , aspiration pressure; L , aspirated length

局所的に切り出すことが不要であり、ピペット先端近傍の弾性率を簡便かつ定量的に測定することが可能である。我々の検討の結果、弾性率はピペット先端近傍のピペット断面とおよそ同程度の大きさの領域の平均値として求められることがわかっている。したがって測定の際には測定領域内に占める構成要素の大きさに応じてピペット断面寸法を選択すればよい。

一般に生体軟組織は、応力-ひずみ関係において非線形な曲線を描く材料非線形性と、変形前後の座標の違いを無視できない幾何学的な非線形性を示す。しかし解析の第一近似として、等方性材料の変形を線形で表現することとし、陰圧 ΔP を加えた場合の変形 L/a (ここで a はピペットの内半径)の間に下記の無次元化した関係式が成り立つと仮定して解析を行ってきた^{(2)~(6)}。

$$\left(\frac{L}{a}\right)_{iso} = C_1 \left(\frac{\Delta P}{E}\right)_{iso} \dots\dots\dots (1)$$

ここで E は求める弾性率であり、 C_1 は定数である。添字 iso は等方性を表す。一方、実験においても L/a と ΔP の関係を得ることが出来る。一般には陰圧と変形量の関係は二次曲線に近似できるので $\Delta P=0$ における接線の傾きから等方性弾性率を求めることができる。

しかし測定対象が異方性を有する場合にはこの式を直接に適用することはできない。既報⁽²⁾で数値シミュレーションを行った結果、ピペット法で得られる弾性率はピペット軸方向の弾性率ばかりでなく、ピペット軸に垂直な面内方向の弾性率の影響も受けていることが明らかとなっている。さらに本法は多軸引張試験と考えられ、試料の異方性の主軸方向と吸引による引張の主軸方向が一致していないため、横弾性係数の影響も受けていると予想される。例えば直交異方性体では非圧縮性を仮定すると六つの弾性定数が独立なため、測定される見かけの弾性率 E_{app} はそれらの関数で与えられる。そのため式(1)は次のように書き換えられる。

$$\left(\frac{L}{a}\right)_{aniso} = C_1 \left(\frac{\Delta P}{E_{app}}\right)_{aniso} \dots\dots\dots (2)$$

ここで C_1 は定数である。添字 $aniso$ は異方性を表す。従来の円形断面ピペットでは考慮すべき弾性定数の多さから E_{app} の関数形が複雑になりすぎる。そこで矩形断面ピペットを導入することで扱いを単純化することを考える。

2.2 有限要素法による解析モデル 試料が等方性あるいは面内等方性を有する場合、円形断面ピペットによる吸引では軸対称変形を呈することが容易に予想される。しかし試料表面内に異方性を有する場合は

変形は軸対称にはならない。一方、矩形断面ピペットでは試料が異方性を有する場合においても、断面の主軸方向を試料の異方性の主軸方向に一致させることにより、等方性の場合と同様に横断面内の変形が長辺方向に一様であるとみなすことができる。すなわち直角座標系 (x, y, z) において、測定領域が y 方向に十分大きいとき y 方向に垂直な断面内における変形は測定領域の両端近傍を除けばすべて同一であると仮定できる。 x, z 方向の変位成分 u, w は x, z だけの関数である。また y 方向に関するひずみは零になる。この場合、断面の変形は長辺方向の位置には依存しないため近似的に平面ひずみ状態とみなせる。つまり矩形断面ピペットの利点は長辺方向の弾性率による変形が全体の変形挙動に与える影響を排除できることにある。

既報²⁾では円形断面ピペットをモデル化した二次元軸対称解析を報告した。ここでは従来の解析手法を発展的に展開して、直交異方性材料に対して矩形断面ピペットを用いた二次元平面ひずみ解析を行い、弾性定数および幾何学的条件が測定結果に与える影響を詳しく調べた。図2に二次元有限要素モデルを示す。この解析モデルは既報の軸対称モデルを流用したものである。対称性を考慮してピペット軸に対して2分の1モデルとした。座標系は矩形短辺方向を x 軸、長辺方向を y 軸そしてピペット軸方向を z 軸にとった直角座標系 (x, y, z) である。ピペットは内半短辺 a 、外半短辺 b で表している。また試料は厚さ $h=4.8a$ 、幅 $r=4.8a$ である。以降、特に断らない限りこのモデル

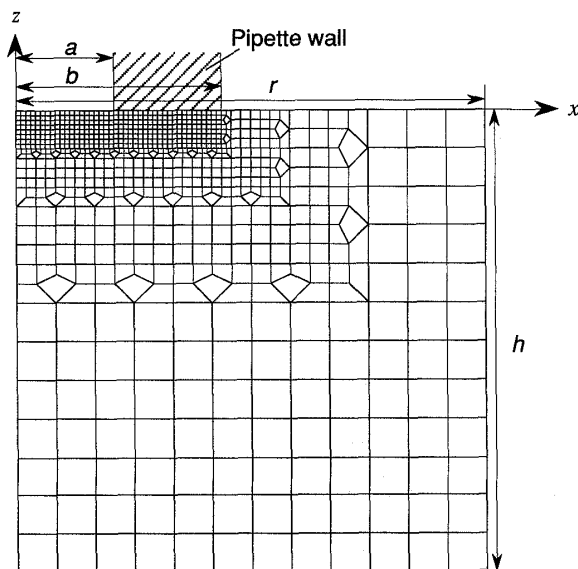


Fig. 2 Two-dimensional finite element mesh. $2a$, inner width of pipette; $2b$, outer width of pipette; h , specimen thickness; r , specimen width

を用いる。試料部分は二次元8節点アイソパラメトリックソリッド要素(要素数788)によるモデル化を行い、ピペット部分は剛体とした。ピペット先端と試料の境界には接触面要素を使い、滑りを自由にした場合と拘束した場合の二通りを計算したが、線形計算の範囲ではほとんど差が現れなかったため以下では滑り自由の場合の結果を示した。解析はワークステーション (SPARCstation IPC, Sun Microsystems) 上で汎用有限要素法プログラム (ANSYS 5.0A, Swanson Analysis Systems) により行った。

材料定数の設定に当たっては、まず材料に非圧縮性を仮定してポアソン比を決定した後、面内等方性を仮定し、またせん断弾性係数は方向によらないと置いて、以下のように求めた。Hooke弾性体に対する応力-ひずみ関係はテンソル方程式として、

$$\sigma_{ij} = E_{ijkl} \epsilon_{kl} \dots\dots\dots (3)$$

と表される。ここで σ_{ij} は応力テンソル、 ϵ_{kl} はひずみテンソル、そして E_{ijkl} は弾性定数のテンソルである。直角座標系 (x, y, z) の座標軸方向に主軸をもつ直交異方性材料を考えると $(i, j, k, l = x, y, z)$ 、対称性から独立な弾性定数は9個である。このとき体積ひずみ ϵ_v は3方向の垂直ひずみ ϵ の和で与えられるため、簡約しないで書き下すと式(3)を展開して次式が成り立つ。

$$\epsilon_v = \epsilon_x + \epsilon_y + \epsilon_z = \frac{1 - \nu_{xy} - \nu_{xz}}{E_x} \sigma_x + \frac{1 - \nu_{yx} - \nu_{yz}}{E_y} \sigma_y + \frac{1 - \nu_{zx} - \nu_{zy}}{E_z} \sigma_z \dots\dots\dots (4)$$

ここで ν はポアソン比そして E は縦弾性係数である。材料の非圧縮性を仮定すると、

$$\epsilon_v = 0 \dots\dots\dots (5)$$

となる。また三軸応力状態は単軸応力状態の線形な重ね合わせで与えられるから、式(4)、(5)より次式が得られる。

$$\nu_{xy} + \nu_{xz} = \nu_{yx} + \nu_{yz} = \nu_{zx} + \nu_{zy} = 1 \dots\dots\dots (6)$$

これと対称性を考慮すると、

$$\left. \begin{aligned} \nu_{xy} &= \frac{E_x}{2} \left(\frac{1}{E_x} + \frac{1}{E_y} - \frac{1}{E_z} \right), & \nu_{yx} &= \frac{E_y}{E_x} \nu_{xy} \\ \nu_{yz} &= \frac{E_y}{2} \left(-\frac{1}{E_x} + \frac{1}{E_y} + \frac{1}{E_z} \right), & \nu_{zy} &= \frac{E_z}{E_y} \nu_{yz} \\ \nu_{zx} &= \frac{E_z}{2} \left(\frac{1}{E_x} - \frac{1}{E_y} + \frac{1}{E_z} \right), & \nu_{xz} &= \frac{E_x}{E_z} \nu_{zx} \end{aligned} \right\} \dots\dots\dots (7)$$

となる。つまりポアソン比は縦弾性係数だけに依存する。したがって独立な弾性定数は6個に減少する。

ここで、直交異方性体には互いに直交する三つの対称面があるが、簡単のため試料は一つの対称面内で等

方性(transversely isotropic)であると仮定するのが便利である。このとき弾性定数は5個が独立となる。例えば血管壁への適用を考えると、佐藤ら⁽¹⁰⁾はイヌ大動脈壁に対して軸方向と円周方向の引張試験を行いひずみが小さい範囲では比較的等方性に近いとしている。Patelら⁽¹¹⁾もイヌ大動脈に対して内圧-外径-軸力試験を行い異方性があるとしながらも、より小さいひずみ領域では軸方向と円周方向の弾性率に大きな差異はないという結果を示している。このことから面内等方性を仮定しても差し支えない。また矩形断面ピペットでは矩形長辺方向の弾性率による変形の影響を排除できるため、ピペット軸に垂直な面内で等方性を仮定することは好都合である。

せん断弾性係数 G については现阶段では簡単のため各方向で差がない ($G = G_{xy} = G_{yz} = G_{zx}$) として、断りのない限り次式で定義した。

$$G = \frac{E_x E_y}{E_x + E_y + 2 \nu_{xy} E_x} \dots\dots\dots (8)$$

これより最終的に独立な弾性定数はさらに減少して縦弾性係数が2個、せん断弾性係数が1個の計3個となる。

また平面ひずみ状態とみなせる縦横比の条件を知るために三次元解析による予備的な検討を行い、縦横比が4程度以上の矩形断面であれば測定対象の異方性の程度によらず長辺中央付近の断面で長辺方向のひずみが零とみなせることを確認している。

2.3 ピペット吸引の実験方法

雑種犬(年齢1歳弱)の項靱帯を対象に実験を行った。陰圧-変形量関係が式(1)で与えられる従来の等方性材料に対する解析方法を使って、矩形および円形断面ピペットによる結果を比較した。ピペットの寸法は矩形断面ピペット(内短辺0.97 mm, 内長辺3.94 mm, 壁厚0.97 mm)および円形断面ピペット(内径0.56 mm, 外径0.80 mm)である。矩形断面ピペットはスライドガラス(厚さ0.9-1.2 mm)を接着剤で4枚張り合せて製作した。

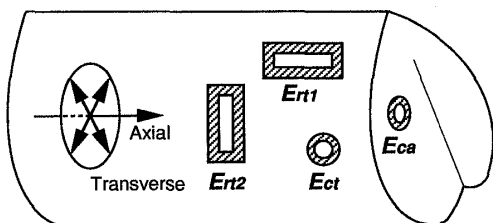


Fig. 3 Schematic diagram of canine ligamentum nuchae and section and direction of pipette aspiration. E_{rt1} , E_{rt2} , E_{ct} , and E_{ca} , elastic moduli obtained in each measurement pipette with rectangular and circular cross-sectional pipettes

項靱帯の柱状試料(軸長約60 mm)を摘出した後、約4°Cの生理食塩水中に保存し、72時間以内に実験に供した。柱状試料から幅5 mm, 長さ5-10 mm程度の平板状試料を切り出した。2種類のピペットによる吸引方法を図3に示す。図中に各測定条件で得られる見かけの弾性率の呼称を併せて示している (E_{rt1} , E_{rt2} , E_{ct} , E_{ca})。矩形断面ピペットでは試料縦断面について、矩形長辺を線維方向とそれに直交する方向に向けた二通りの方法で吸引した。変位の測定は z 方向の変位がほぼ一様となる矩形断面中央付近で行った。円形断面ピペットでは横断面と縦断面をそれぞれ吸引した。

実験装置の概略を図4に示す。平板状試料を測定面を上にして、無負荷状態の形を保ちつつ注意深くコルク板にピンで固定し、室温の生理食塩水中に沈めた。ピペットは試料表面に対してピペット軸を垂直に保ちながら、試料への押し込み量が内径の2-3%の範囲になるように軽く接触させた。そしてローラポンプ(PA-26B, Cole-Parmer Instrument)によりピペット内に0-100 mmHgの陰圧 ΔP を加えて試料の表面を吸引した。陰圧は圧カトランスデューサ(PGM-05KG, Kyowa)で測定した。試料の変形の様子を側面からビデオマイクロスコープ(OVM1000NM, Olympus)により撮影し、モニタ(TM1550, Ikegami)上で画像処理装置(E-1000, Elcow)により二値化して変形量 L を求めた。こうして得られたデータを X - Y レコーダ(WX2400, Graphtec)に取込みその陰圧-変形量関係をもとに弾性率を求めた⁽²⁾⁻⁽⁶⁾。なお L の分解能は

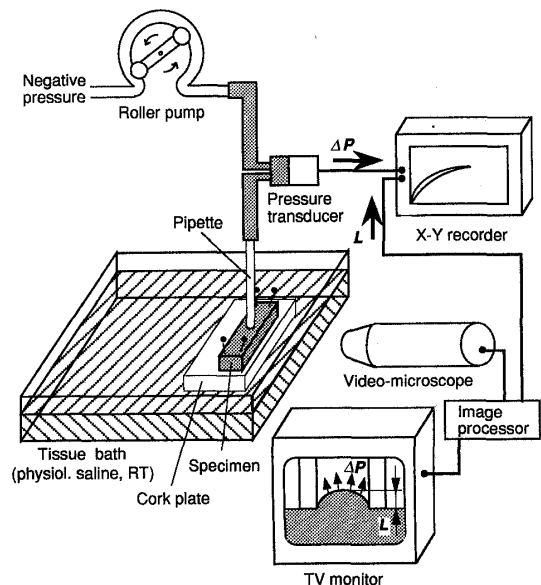


Fig. 4 Schematic diagram of experimental setup

2.1 μm 程度であることを確認してある。吸引実験終了後、試料を4%のホルムアルデヒド水溶液で固定した後、組織切片を作製、Elastica-Masson染色を施して断面の組織像を観察した。

3. 結 果

3.1 有限要素法による解析結果 ピペット先端断面の中心に原点をもつ直角座標系 (x, y, z) において xy 面, yz 面, zx 面を夫々等方性面と仮定して解析した結果を図5に示す。等方性面内の弾性率 E_{ii} を一定にして、それと垂直な方向の弾性率 E_n を変化させて、そのときの变形から得られる見かけの弾性率 E_{app} が E_{ii} からどの程度変化するかを調べた。両軸とも E_{ii} で無次元化している。ここで E_{app} は面内等方性の場合に得られる変形量の完全等方性の場合に得られる変形量に対する相対比として定義している。 $E_n/E_{ii}=1$ は完全等方性を表し、このとき E_{app} は等方性弾性率に等しくなる。既報のモデル⁽²⁾ を使った円形断面ピペットの結果も併せて示す。矩形断面ピペットでは y 方向の弾性率を変化させた場合は弾性率比が E_{app} に与える影響は小さいが、 x 方向あるいは z 方向の弾性率を変化させた場合 E_{app} は E_{ii} から大きく離れていった。 E_{app} の変化率は E_n に対して両者とも半分程度であった。一方、円形断面ピペットでは xy 面内の一方方向の弾性率を変化させた場合は E_{app} はほとんど変化しないが、 z 方向の弾性率に対しては E_{app} は大きく変化する。以降、ピペット軸に垂直な面内で等方性 (xy 面内等方性) を仮定して解析を行った。

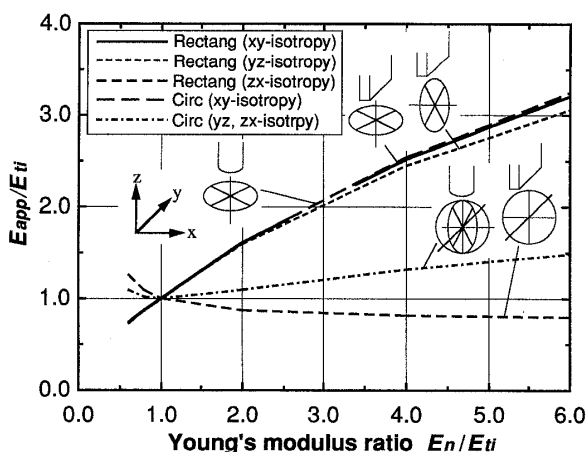


Fig. 5 Effect of plane isotropy. The sign \otimes represents isotropic plane. Curves represent elastic moduli obtained from measurements of various relative directions to isotropic plane with rectangular (\sqcup) and circular (\cup) cross-sectional pipettes

ピペット軸方向の弾性率 E_z とそれに垂直な面内方向の弾性率 E_{ii} の比を変化させながら解析モデルの幾何学的条件が測定結果に与える影響を検討した。 E_{ii} を固定し、 E_z を変化させた場合の吸引変形 L/a の変化を調べた。図が煩雑になるため結果にはいくつかの弾性率比の場合についてのみ示した。ピペットの相対管壁厚 $(b-a)/a$ が変形 L/a に及ぼす影響を調べた結果を図6に示す。図中破線は等方性の場合を示す。図よりピペット壁厚が増すに従い L/a が単調に減少し、相対的に吸引変形が生じにくくなるのがわかる。これは一見、ピペット壁厚が増し試料が滑りにくくなった結果のように見えるが、2章で述べたように滑りの影響は無視できる。ピペット壁断面積の増加により、陰圧の反力によるピペットの試料への押し込み量が減少した結果であると思われる。 L/a は異方性の程度によらず $(b-a)/a=1$ 程度で収束し、それ以上の壁厚においてはほぼ一定である。以降、 $(b-a)/a=1.1$ に限定して計算した。

同様にして試料の厚さ h/a および幅 r/a が変形 L/a に及ぼす影響を図7にそれぞれ示す。 $h/a, r/a$ が增大するに従って L/a が単調に減少し、吸引変形が起こりにくくなることを示すが、 $h/a=3$ および $r/a=3$ 程度で収束しそれ以上では一定になる。

さらに直交異方性材料の場合、本法で測定される弾性率 E_{app} は3方向の縦弾性係数 E とせん断弾性係数 G の組合せで与えられる。そこで G の影響を検討することは重要である。一例として直交異方性材料の特別な場合 ($E_x=E_y=E_z=E_{iso}$) についてせん断弾性係数 ($G_{xy}=G_{yz}=G_{zx}=G$) を変化させたとき、 E_{app} が E_{iso} からどの程度離れるかを調べた結果が図8である。円形断面ピペットの結果も破線で併記してある。等方性におけるせん断弾性係数 G_{iso} を基準として G

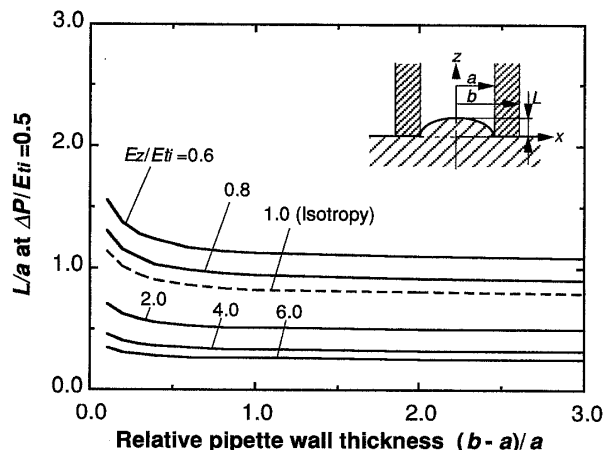
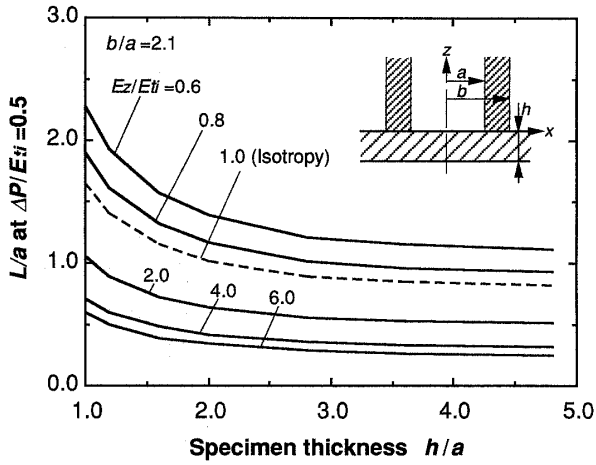
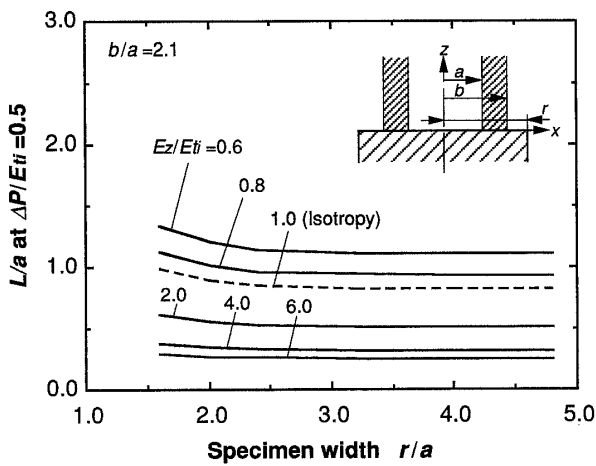


Fig. 6 Effect of pipette wall thickness

を変化させた。両軸とも等方性縦弾性係数およびせん断弾性係数でそれぞれ無次元化して表している。いずれのピペットの場合も見かけの弾性率 E_{app} は G が增大するに従い単調に増大した。



(a) Effect of specimen thickness



(b) Effect of specimen width

Fig. 7 Effect of specimen dimensions

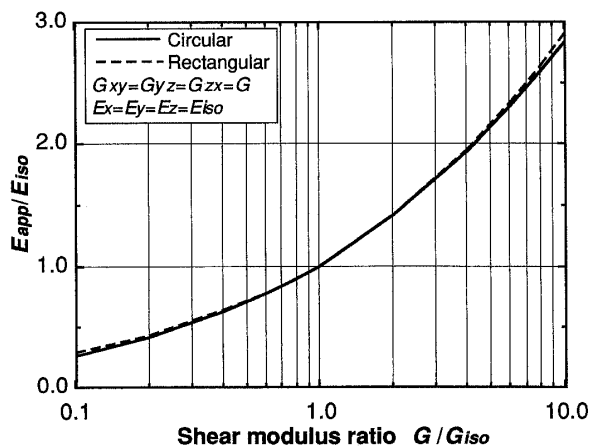


Fig. 8 Effect of shear modulus

3.2 実験結果 矩形断面ピペットによって得られた陰圧-変形量曲線の一例を図9に示す。この図は陰圧 ΔP を 100 mmHg まで負荷し減圧したときの曲線で、ヒステリシスがみられる。しかし本研究では負

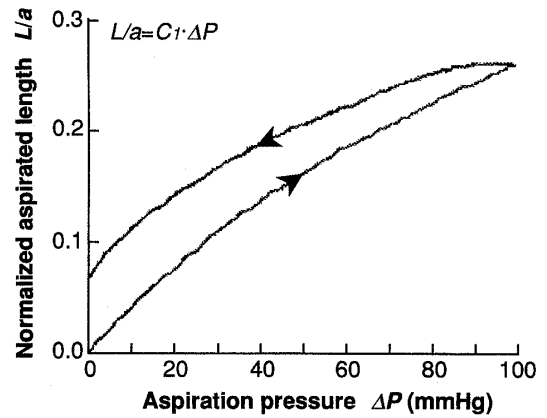


Fig. 9 Aspiration pressure vs. normalized aspirated length curve

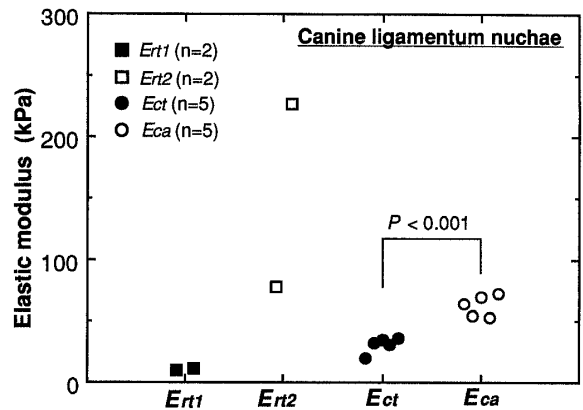
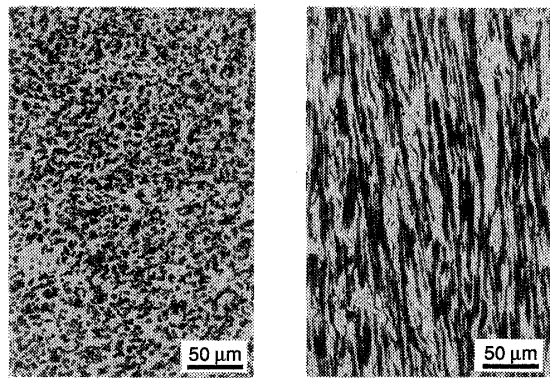


Fig. 10 Elastic moduli obtained in canine ligamentum nuchae. See Fig. 3 for legends



(a) Cross section (b) Logitudinal section

Fig. 11 Photomicrographs of canine ligamentum nuchae (Elastic-Masson stain)

荷時の曲線のみを解析に用いた。従来の等方性を仮定した解析によって得られた2種類のピベットによる弾性率を図10に示す。矩形断面ピベットにおいては E_{rt2} は E_{rt1} よりも平均値で10倍以上高かった。 E_{rt2} の二つの値は互いに3倍程度の違いを示しているが、両者とも E_{rt1} よりもはるかに高いことがわかる。一方、円形断面ピベットでは E_{ca} は E_{ct} よりも有意に高かった。これらの結果は縦断面内で顕著な異方性があることを示している。縦断面から得られた結果のみを比較すると平均値は $E_{rt2} > E_{ct} > E_{rt1}$ であった。また図11に横断面と縦断面から得られた組織像をそれぞれ示す。濃く見えるのは弾性線維であり淡く見えるのは膠原線維である。弾性線維が靭帯長軸方向に配向しており、その間隙を埋めるように垂るんだ膠原線維がまばらに存在していた。つまり項靭帯は線維方向の力学的強度が他の2方向よりも非常に高いことが予想される。

4. 考 察

生体軟組織の局所弾性率の測定法であるピベット吸引法に対して矩形断面ピベットの導入を提案し、有限要素法による数値シミュレーションからその有効性を検討した。解析対象が均質等方性材料の場合、ピベット断面形状および断面寸法の違いで測定結果に差がないことはすでに確認している(未発表データ)。しかし解析対象が直交異方性を有する場合、ピベット法がある特定の方向の弾性率を選択的に測定しているのであれば測定結果は異方性の程度に依存して影響を受ける。また断面形状にも依存するのであればそれに応じて補正を加えることになる。この場合、円形断面ピベットでは独立な弾性定数が6個であり異方性弾性率を測定することは困難である。そこであらかじめ未知数を減らすことを検討し、直交異方性の仮定のもとで矩形断面ピベットを用いた方法が有効であると考えた。

等方性面を変化させた数値計算から、円形断面ピベットの場合ピベット軸方向の弾性率がそれに垂直な面内の1方向の弾性率よりも支配的であることがわかる。しかし、円形断面ピベットでは1方向の測定のみでピベット軸に垂直な面内の異方性を測定できないことは明らかである。一方、矩形断面ピベットについてはピベット軸方向の弾性率とそれに垂直な矩形短辺方向の弾性率が支配的であり、長辺方向の弾性率による変形が測定結果に対してほとんど寄与しないことがわかる。明らかに矩形断面ピベットでは長辺方向の弾性率による変形の影響が回避できている。つまり矩形断面ピベットを使えば試料表面に垂直にあてた測定だけ

で試料表面内の異方性を測定できる。また z 方向と x 方向をそれぞれ変化させた場合について E_{app} の変化率はほとんど差がないことから、直交する2方向の弾性率の測定結果への寄与は同程度であると考えられる。以上の結果より、矩形断面ピベットではピベット軸方向とそれに垂直な短辺方向の弾性率の扱いに簡単化するため、ピベット軸に垂直な面内で等方性な横等方性(xy 面内等方性)を仮定し解析を行った。一般に生体軟組織は長手方向に力学特性が強い異方性を有する。そのため等方性面に対する面外1方向の弾性率を変化させた解析は有効である。矩形断面ピベットの場合二次元問題として扱うことができ、さらにせん断弾性係数が方向によらないとすると独立な弾性定数は3個となるが、式(2)における見かけの弾性率 E_{app} の関数形をどのような形に仮定すれば異方性弾性率を精度よく記述できるかという検討が必要である。この関数形を決定するためには実験との逐次近似が不可欠である。具体的には他の実験方法との組合せが必要であるが、例えばDengら⁽¹²⁾の方法によって円筒状試料に対してトルクとねじれ角の関係から横弾性係数を求めた後、吸引試験をそのせん断に関与する2方向について行うことで可能となると考えている。

次に代表的な測定時の諸条件がどの程度結果に影響を及ぼすのかを検討した。異方性の程度によらず、ピベット外半短辺は内半短辺の2倍程度以上、試料厚さおよび幅はピベット内半短辺の3倍程度以上あればこれらの諸条件が測定結果に影響を与えないことがわかった。つまり $b/a > 2$ 程度のピベットを使うことでピベット壁厚の影響を排除できる。また試料厚さおよび幅がピベット内半短辺の3倍程度以下では、それらに応じて構成式の係数 C_i を変化させる必要が生じる。あるいは試料形状に応じてピベット断面寸法を小さくすればよい。この結果は既報のモデルに対する結果とほぼ同様であった⁽²⁾。

またせん断弾性係数の影響を調べた結果、 G を10倍変化させると見かけの弾性率 E_{app} は3倍程度大きくなった。せん断弾性係数の影響は無視できないことは本法を用いて E を算出することを複雑にしている。このような問題はあるが、2方向の縦弾性係数の比を取り扱う限りではせん断弾性係数の影響は考慮する必要がないため本法は有効である。

以上、測定結果が縦弾性係数 E およびせん断弾性係数 G にどの程度支配されるかを明らかにしてきた。異方性弾性率を正確に測定する場合、本法は見かけの弾性率 E_{app} の関数形を同定することに帰着する。将来は E_{app} を決定することを考えている。

実験例として、従来の等方性材料に対する解析方法を使って矩形断面および円形断面ピペットによるイヌ項靱帯の吸引試験を行った。その結果、矩形断面ピペットの矩形長辺を靱帯長軸方向に一致させた測定結果が最も大きかった。項靱帯は長軸方向に線維が配向していることから E_{r2} が最も選択的に線維方向の弾性率を測定していると考えられる。線維方向の弾性率が大きいという結果は組織像を密接に反映していると考えられる。つまり等方性の仮定に基づいてはいるが、矩形断面ピペットを用いることで異方性弾性率を選択的に測定できることが示唆された。生体軟組織の異方性は組織の微細構造に密接に関係するため、異方性を局所的に知ることは組織のミクロな力学環境を理解する上で非常に重要である。

生体軟組織の代表的組織である血管壁の異方性に関する報告としては、円筒状試料に対して内圧-外径-軸力関係から弾性係数を求めたもの、あるいは切り出した短冊状試料に対して引張試験から弾性係数を求めたものなどが一般的である。しかしいずれの報告も壁全体の平均としての力学特性の議論にとどまっている。さらに軟組織ゆえの扱いにくさから試料作製、取付けに困難があるなど問題点も多い。また局所力学特性の試験としては本法の他に押し込み試験がある。Gowら⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾は先端が数百 μm 程度のプローブを使って、イヌまたはウサギ大動脈に対して押し込み試験を行い局所の力学特性を求めた。また Sumnerら⁽¹⁵⁾はイヌ海綿骨の横断面について同様の試験を行い断面内のヤング率分布を具体的に得た。しかしいずれの場合も材料の等方性を仮定してのスティフネスあるいはヤング率であり、局所の異方性については測定できない。このように押し込み試験では異方性が測定できない上にそれ以外にもいくつか問題点が挙げられる。例えば押し込みによるため圧縮特性を測定していること、また下層が表層よりも柔らかい場合には下層の力学特性が結果に反映されてしまうことなどである。以上の点から、ピペット法はピペットが接した試料表面の局所領域の異方性弾性率そのものを簡便かつ精度よく測定できるため従来法にはない利点を有すると考えられ、新たな弾性率測定法として非常に有効である。さらに測定対象を局所的に切り出すことが不要なため、将来は生体内での測定法としての応用が考えられる。

5. 結 言

本研究ではピペット吸引法を用いた生体軟組織の異

方性弾性率の測定法として矩形断面ピペットの導入を提案し、有限要素法による数値シミュレーションを行いその有効性を評価した。矩形断面ピペットでは矩形長軸方向の弾性率による変形の影響を排除できることを明らかにした。さらに試料の異方性の程度、幾何学形状など代表的な測定時の諸条件が測定結果に与える影響を具体的に示した。矩形断面ピペットは円形断面ピペットに比べて異方性弾性率をより選択的に測定でき、他の実験との組合せにより3方向の弾性率を厳密に測定できる可能性が示唆された。また、ピペット先端近傍の局所弾性率を簡便に精度よく測定できる点で非常に有用である。

本研究の一部は文部省科研費・重点領域研究「バイオメカニクス」(研究代表者：青木隆平、課題番号：05221101 および 06213101)によるものである。イヌ項靱帯の摘出に当たっては東北大学加齢医学研究所・木村光男先生(現：仙台社会保険病院)にご協力をお願いした。また実験に際しては東北大学工学部学部生・宇野隆也君[現：アロカ(株)]および東北大学工学部・小川原凱紀技官にご協力をいただいた。併せて深く感謝の意を表する。

文 献

- (1) Abé, H., ほか 2 名編, *Data Book on Mechanical Properties of Living Cells, Tissues, and Organs*, (1996), 25-114, Springer.
- (2) Aoki, T., ほか 2 名, *Annals Biomed. Eng.*, **25** (1997), 印刷中.
- (3) Kataoka, N., ほか 4 名, *Theor. Appl. Mech.*, **43** (1994), 233-238.
- (4) Ohashi, T., ほか 3 名, *Proceedings of the Fourth China-Japan-USA-Singapore Conference on Biomechanics*, (1995), 115-118, International Academic Publishers.
- (5) 大橋俊朗・ほか 5 名, 機講論, **95-2, A** (1995), 85-86.
- (6) Ohashi, T., ほか 3 名, *1995 Advances in Bioengineering*, **31** (1995), 259-260, ASME.
- (7) Evans, E. A., *Biophys. J.*, **13** (1973), 941-954.
- (8) Sato, M., ほか 2 名, *Trans. ASME J. Biomech. Eng.*, **109** (1987), 27-34.
- (9) Theret, D. P., ほか 4 名, *Trans. ASME J. Biomech. Eng.*, **110** (1988), 190-199.
- (10) 佐藤正明・ほか 5 名, 医用電子と生体工学, **15** (1977), 403-409.
- (11) Patel, D. J., ほか 2 名, *Circ. Res.*, **25** (1969), 765-779.
- (12) Deng, S. X., ほか 3 名, *Am. J. Physiol.*, **266** (1994), H1-H10.
- (13) Gow, B. S. and Vaishnav, R. N., *J. Appl. Physiol.*, **38** (1975), 344-350.
- (14) Gow, B. S., ほか 2 名, *J. Biomech.*, **16** (1983), 451-458.
- (15) Sumner, D. R., ほか 3 名, *J. Biomech.*, **27** (1994), 1095-1099.