

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23560100

研究課題名(和文) 脳神経細胞の力学損傷の定量解析による頭部傷害メカニズムの解明

研究課題名(英文) Research on brain injury mechanism by quantitative analysis of the tissue damage

研究代表者

西本 哲也(NISHIMOTO, Tetsuya)

日本大学・工学部・教授

研究者番号：30424740

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：交通事故等により脳へ衝撃が加わった場合の傷害を衝撃実験と圧縮実験により解析した。衝撃実験では31.5rad/sの回転衝撃を加えると傷害が発生する可能性があった。圧縮実験の結果では、ひずみ30%から軸索に断裂が生じ、神経細胞体は楕円形に2倍に伸長した。本研究の結果、脳へひずみ30%以上の外力が発生すると傷害が発生する可能性があることが分かった。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to examine micro injuries of brain tissue to gain a better understanding of head injury tolerance. In the animal impact tests due to head injury mechanism, we developed new head rotational impact apparatus of porcine. Compression stress relaxation experiments were conducted in vitro, using porcine brain tissue and subsequently analysed using stain methods. The distribution of the damage ratio of the transverse length to the longitudinal length of brain nerve cells in the brain tissue under loading was also examined. This indicated that at a compression strain of 30% or greater the aspect ratio exceeded 2.0. The results of this study show that a compression strain of 30% corresponds to the threshold for the extreme aspect ratio of 2.0; where the transverse length of deformed nerve cell is two times greater than longitudinal length.

Research involving animal tests was approved by the Ethics Committee of Nihon University with the approval number AP11E003.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・機械材料・材料力学

キーワード：生体力学 インパクトバイオメカニクス 頭部外傷 脳特性 自動車安全

1. 研究開始当初の背景

頭部外傷は交通事故や転倒事故などで発生し、生命を司る器官である頭部を保護することは極めて重要である。脳挫傷の死亡率は44%、びまん性軸索損傷は60%にも達する。一方、頭部を保護する自動車の安全基準について、日本では1993年より並進加速度に基づく頭部傷害評価法が適用されている。これは米国で1960年代にヒト屍体の落下実験により加速度とその持続時間の関係から耐性曲線を求めたものであり、頭蓋骨折を伴う脳震盪の発生限界を判断する指標となっている。しかし、脳損傷を定量的に評価することはできなかった。

2. 研究の目的

交通事故や転倒での被害軽減のため、生命を維持する重要な器官である頭部の保護対策をさらに進める必要があるが、頭部の傷害基準は1960年代の死体実験に基づいており、傷害評価方法は現在まで進歩していない。コンピュータシミュレーションによる応力解析は進展しているものの、発生する傷害と応力レベルとの定量的な関係や傷害発生のしきい値は分かっておらず、十分な保護対策を講じることができていない。そこで、本研究では生きた動物を用いた *in vitro* 力学実験と厳密な *in vivo* 実験の比較解析により、脳神経細胞と神経線維の損傷形態をマイクロレベルで解析し、頭部傷害の詳細なメカニズムと傷害発生レベルを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 頭部の回転衝撃実験

体幹がシートベルトにより拘束された状態で衝撃が自動車乗車乗員に荷重される場合や、歩行者がバンパに脚部を衝突させ上半身の回転挙動が生じる場合を考慮すると、頭部へ回転運動が作用した場合の傷害メカニズムを研究するのが妥当である。そこで本研究では頭部回転型 *in vivo* 実験装置の試作を実施し、*in vivo* 回転衝撃実験を実施した。

(2) 摘出脳の圧縮実験とそのマイクロ観察

マイクロレベルで脳損傷を解析することを目的として、ひずみ量をパラメータとした摘出脳(食用豚の頭部を購入して摘出した脳)を用いた *in vitro* 圧縮実験を実施した。圧縮による力学負荷後に試験片を2種類の脳組織染色法で損傷を可視化し、圧縮ひずみと細胞損傷の関係を解析した。

4. 研究成果

(1) 頭部回転衝撃実験装置

実験動物として選定したブタ頭部の形状計測を実施し、回転外力を負荷するための装置を試作した。実験装置は、ボールねじ駆動用モーター、回転タイミングベルト、駆動フレーム、加速フレーム、加速ゴム、頭部ホルダーにより構成した(図1)。実験装置の駆

動では、ボールねじ駆動用モーターの回転をタイミングベルトにより2本のボールねじに伝え、ボールねじを回転させることにより、駆動フレームを図の右方向に移動させる。それに伴い、クランプ機構につながれた加速フレームが右方向に移動する。加速フレームには加速ゴムが接続されており、このゴムが引張られて伸びることになる。加速ゴムの伸び変位および荷重を計測しておき、所定の伸び量になった時にボールねじ駆動用モーターを停止する構造とした。

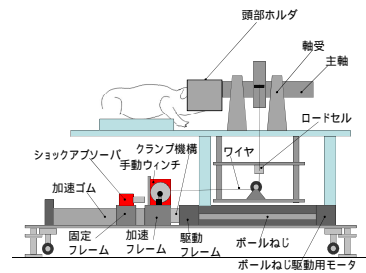


図1 頭部回転衝撃実験装置

(2) *in vivo* 頭部の回転衝撃実験

角速度と脳損傷の関係を求めるための実験を実施した。実験ではヒトと脳の構造が似ているブタ(約60kg)を用いておこなった。ブタは麻酔による自立呼吸をさせることで、*in vivo* 実験を実施した。加速ゴムに発生させる試験荷重を10kNとし、ブタ頭部に矢状方向の回転運動を負荷して発生する脳損傷を求めた。実験では13.3rad/sの角速度を頭部に発生させたところ可視できる脳損傷は発生しなかったが、マイクロレベルの脳損傷が発生した可能性があった。

なお本実験の実施にあたり、日本大学動物実験委員会の倫理承認手続きを実施し、「頭部および胸腹部の傷害メカニズムに関する研究」とした動物実験倫理委員会の審査を受けて実施した(承認番号AP11E003号)。

(3) *in vitro* 圧縮実験

次に脳試験片は食肉加工センターより屠畜直後の新鮮なブタ頭部を購入した後、開頭により脳実質を摘出し、頭頂葉より大脳皮質を含む20mm×20mm×20mmの立方体を切り出し圧縮実験を実施した。図2に示す小型の圧縮試験装置を用いて供試体へ静的荷重を負荷した。圧縮速度は1mm/s一定である。圧縮荷重は圧縮プレート下部に設置したロードセル、圧縮量は変位計によりサンプリング周波数をそれぞれ1kHzに設定して計測した。

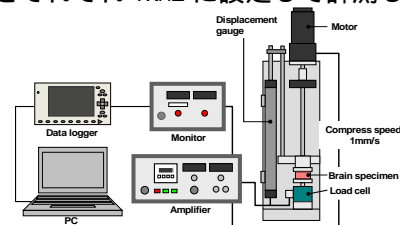


図2 脳実質の圧縮実験

実験では圧縮ひずみを 10%から 50%まで 10%おきに 5 段階実施し、それぞれの圧縮ひずみに相当する変位まで試験片を圧縮した後、120 秒間荷重負荷状態を維持した。これは脳の内部組織を均一に変形させるためである。図 3 に 10%おきに 50%までのひずみ量別の応力-時間線図を示す。脳は粘弾性体であり、圧縮状態を 120 秒間維持すると時間経過と共に応力が減衰する応力緩和現象が生じた。吸収エネルギーはひずみ量に依存しているが、特にひずみ 30%から、そしてひずみ 50%で急激に増加する傾向があった。

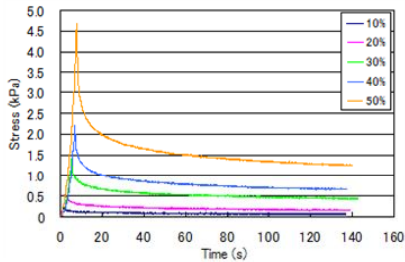


図 3 脳のひずみ量別応力緩和特性

(4) in vitro 圧縮実験の染色観察

図 4 に蛍光抗体法によって可視化した神経細胞と神経線維の観察結果を示す。ニューロフィラメントは緑色の部位であり、青色の部位は DAPI によって染色された細胞核である。ひずみ 0%では核を含む神経細胞体、軸索や樹状突起で構成される神経線維が正常な状態で確認できた。ひずみ 10%と 20%では小規模な変形が生じたものの、神経細胞体の形状は球状に保たれていた。また軸索を含む神経線維の損傷は確認できなかった。一方、ひずみ 30%では軸索に断裂が生じた。また、ひずみ 40%では DAPI によって染色された細胞核の周囲が細胞体を圧迫したと予想される画像が観察された。ひずみ 40%の画像は毛細血管が神経線維へ侵入し、結果として圧迫をしている。ひずみ 50%では軸索の断裂に加えて細胞核の壊死が確認された。

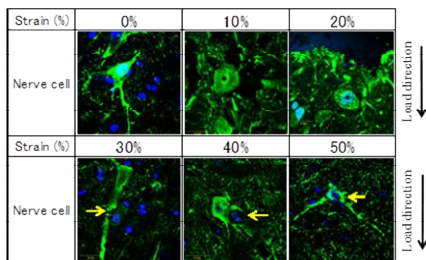


図 4 蛍光抗体法による脳損傷の観察結果

図 5 には酵素抗体法による観察結果を示す。酵素抗体法による神経細胞の組織観察では、ひずみ 0%、10%、20%では神経細胞体の変形はなく球状を保っており、蛍光抗体法による観察と同様の傾向があった。ひずみ 30%以上になると、楕円形に変形した神経細胞体が数多く確認された。

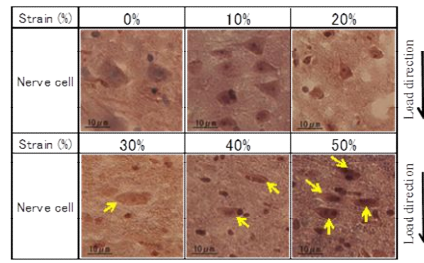


図 5 酵素抗体法による脳損傷の観察結果

以上のように、これら 2 種類の組織観察の結果では、蛍光抗体法では神経線維の断裂や細胞変形、酵素抗体法では神経細胞体の変形が観察され、定性的観察でもひずみ 30%が損傷の境界となると考えられた。

(5) 圧縮ひずみと脳損傷メカニズムの関係

図 6 に酵素抗体法による神経細胞の変形を解析し、10%から 50%までのひずみについて神経細胞の縦横比の分布として示す。まず、荷重無負荷時のひずみ 0%の神経細胞体は平均縦横比が 0.98 ± 0.10 となり、2次元としてみると細胞体は真円である。この縦横比 0.98 ± 0.10 の範囲を無損傷の縦横比域とする。ひずみが 10%と 20%では、無損傷域の神経細胞体が減少し、縦横比 1.08 から 1.50 の小規模変形の神経細胞体の割合が高くなる傾向にある。そして、ひずみ 30%以降の組織では無損傷域の神経細胞体はさらに減少し、縦横比 2.0 を超える大規模変形の神経細胞体が出現するようになる。

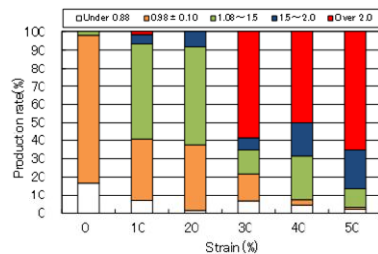


図 6 脳ひずみ量と細胞変形の関係

図 7 にひずみ別に脳細胞の平均縦横比、吸収エネルギーを示す。各ひずみの神経細胞の縦横比の平均値を示す。平均縦横比はひずみ 20%までは 1.0、すなわち真円に近い形状となっているが、ひずみ 30%以上になるとその平均縦横比は急増し、ひずみ 30%以上では 2.0 に収束する傾向があることが分かった。

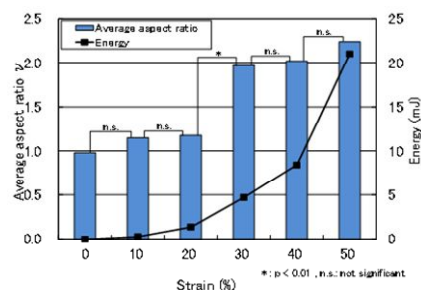


図 7 脳ひずみ量と縦横比、吸収エネルギー

脳の吸収エネルギーは 20%から 30%間と 40%から 50%間で急激に変化した。これを神経細胞体の平均縦横比の変化と比較すると、平均縦横比も 20%から 30%間で急激に増加する。一方、吸収エネルギーが 40%から 50%の間で大幅に増加するのに対し、ひずみ 30%以上で神経細胞体の縦横比は 2.0 に収束している。これらの関係から、ひずみ 20%負荷までは神経細胞体はほとんど変形しないために吸収エネルギーも大きく変化しないが、ひずみ 30%では神経細胞体(灰白質)が大変形したために縦横比は 2 倍に横方向に伸長し、吸収エネルギーは神経細胞体の変形が影響してひずみ 20%から 30%にかけて増加するものと考えられる。しかし、神経細胞体はひずみ 30%で極限まで変形しているためにひずみ 30%以上では縦横比は変化をせず、ひずみ 30%を越える吸収エネルギー量の増加は神経細胞体以外の変形として剛性の高い神経線維からなる白質が変形することでエネルギーの大きな増加があったとみなせた。

今回得られた知見を現実の頭部外傷にあてはめて考えると、ラット頭部の回転衝撃実験により脳室の体積が増加するとの他研究があり、脳深部中央にある脳室の増加は頭蓋と脳室の間にある脳実質が圧縮される状況を生じさせているとみなせる。したがって、脳実質に生じる圧縮ひずみによって脳実質の傷害に及ぼす影響があると想定され、本研究に基づけばひずみ 30%がその閾値になると言える。

びまん性軸索損傷のように意識障害を伴う頭部傷害の発生要因として回転衝撃による脳のせん断応力やせん断ひずみが傷害メカニズムとして着目されているが、加えて脳室の増大による脳実質の圧縮によるひずみを受けて、脳の損傷が生じる可能性があることが分かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

望月康廣, 西本哲也, 平山和雄, 局所性脳損傷における神経損傷を再現する衝撃実験用ダミー頭部の開発, 日本機械学会論文集 A 編, 査読有, 79 巻(2013), 808 号, pp.1768-1780.

望月康廣, 西本哲也, 富永茂, 阪本雄一郎, 益子邦洋, 日本外傷データバンクを用いた交通傷害の詳細解析, 自動車技術会論文集, 査読有, Vol.42, No.5(2011), pp1211-1216.

D. WATANABE, K. YUGE, T. NISHIMOTO, S. MURAKAMI and H. TAKAO, Simulation of a human head subject to a lateral rotational impact and study on the cause of a diffuse axonal injury, International Journal of Vehicle Safety, 査読有, Vol.5, No.4(2011), 333-344(2012.3).

〔学会発表〕(計 18 件)

西本哲也, 交通外傷の生体力学解析と自動車搭載装置への応用, 次世代センサ協議会第 70 回研究会, 2014/1/24 発表, 日本工学部次世代工学技術研究センター

鈴木雅年, 西本哲也, in vitro 実験による脳軸索損傷の定量解析, 日本機械学会関東支部山梨講演会, No130-3, pp.112-113, 2013/10/26 発表, 山梨大学

西本哲也, 日本実験力学会 人体損傷評価分科会・第 5 回研究会 特別講演, 日本大学における医工連携による人体損傷の生体力学解析とその応用, 2013/10/25 発表, 山梨大学

鈴木雅年, 西本哲也, in vitro におけるアミロイド 前駆体蛋白質を指標とした軸索損傷の再現, 日本機械学会 2013 年度年次大会, J022014, 2013/9/10 発表, 岡山大学

西本哲也, 福島県立医科大学産学官連携セミナー, 外傷の生体力学解析とそれを応用した車載装置の開発, 2013/9/4 発表, 福島県立医科大学

望月康廣, 西本哲也, Robert Anderson, 細胞損傷とシミュレーションモデルによる頭部傷害評価手法の開発, 日本計算工学会第 18 回計算力学講演会, G-8-2, 2013/6/20 発表, 東京大学生産技術研究所

渡邊大, 桂浩太, 西本哲也, 一般公開を目的とした衝撃解析用頭部ボクセルモデルの開発, 日本計算工学会第 18 回計算力学講演会, G-8-1, 2013/6/20 発表, 東京大学生産技術研究所

望月康廣, 寺島征哉, 鈴木雅年, 西本哲也, Robert Anderson, APP 蛋白とコンピュータシミュレーションを用いた脳損傷解析, 日本機械学会第 25 回バイオエンジニアリング講演会, 3A04, 2013/1/11 発表, 産業総合技術研究所つくばセンター

望月康廣, 西本哲也, 平山和雄, 傷害予測用ダミーを用いた神経損傷評価法の開発, 日本機械学会 2012 年度年次大会, J021023, 2012/9/10 発表, 金沢大学

Yasuhiro Mochizuki, Tetsuya Nishimoto, Kazuo Hirayama, Development of a Human Dummy for Nerve Injury, ICRASH 2012, International Crashworthiness Conference, Politecnico di Milano Dipartimento di Ingegneria Aerospaziale, Italy, 2012/07/18 発表

寺島征哉, 西本哲也, Robert Anderson, 動物脳モデルの衝撃解析シミュレーション, 日本計算工学会第 17 回計算力学講演会, D-9-3, 2012/5/31 発表, 京都教育文化センター

田中 拓也, 鈴木雅年, 西本哲也, 脳の圧縮実験による損傷の力学解析, 2011 年度自動車技術会関東支部学術研究講演会, No.D3-2, 2012/3/8 発表, 日本大学理工学部

鈴木雅年, 寺島 征哉, 望月 康廣, 西本哲也, Robert Anderson, アミロイド 前駆体

蛋白による頭部外傷の定量解析,2011年度自動車技術会関東支部学術研究講演会, No.D3-1, 2012/3/8 発表, 日本大学理工学部
望月康廣, 西本哲也, 平山和雄, 細胞損傷時の Ca²⁺増加を応用した神経損傷評価用頭部物理モデルの開発, 第 43 回応力・ひずみ測定と強度評価シンポジウム, 37-40, 2012/1/23 発表, 大田区産業プラザ

望月康廣, 西本哲也, 平山和雄, 細胞損傷による Ca²⁺増加を再現する脳物理モデルの構築, 日本機械学会第 24 回バイオエンジニアリング講演会, 7A45, 2012/1/7 発表, 大阪大学

寺島征哉, 西本哲也, 渡邊大, Jeffrey Dutschke, Robert Anderson, 医用画像に基づく動物脳のボクセルモデル構築, 日本機械学会スポーツ・アンド・ヒューマンダイナミクス 2011, A42, No. 11-17, 223-224, 2011/11/2 発表, 京都大学

西本哲也, 日本実験力学学会人体損傷評価分科会・第 2 回研究会 特別講演, 自動車安全のための外傷実験モデルの構築による傷害のミクロ解析, 2011/5/13 発表, A P 名古屋

望月康廣, 西本哲也, 富永茂, 阪本雄一郎, 益子邦洋, 日本外傷データバンクを用いた交通傷害の詳細解析, 自動車技術会 2011 年春季大会, No. 78-11, 9-14, 2011/5/20 発表, パシフィコ横浜

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.mech.ce.nihon-u.ac.jp/~tnishi/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西本 哲也 (NISHIMOTO, Tetsuya)

日本大学・工学部・教授

研究者番号: 30424740