

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：17104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26420018

研究課題名(和文) ヒト剖検例を用いた粥状動脈硬化病変部の不均質性が損傷・破裂に及ぼす影響の解明

研究課題名(英文) Investigation of the effects of inhomogeneity of atheromatous plaques on damage and rupture of the artery with a use of human autopsy samples

研究代表者

山田 宏 (Yamada, Hiroshi)

九州工業大学・大学院生命体工学研究科・教授

研究者番号：00220400

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：粥状動脈硬化斑の存在する胸大動脈の標本について、マイクロCTによる石灰化領域の同定、動脈壁内部の染色画像観察、画像相関法による内皮面のひずみ解析を行った結果、表面近傍の線維性被膜が石灰化すると、動脈壁伸展時に内皮面のひずみが局所的にほぼ零となった。頸動脈内膜を厚さ50ミクロンに薄切して作製した線維性被膜と脂質コアからなる試験片では、正常な場合の伸展挙動と異なり、小さなひずみで損傷が発生した。有限要素解析より、プラーク内出血を伴う破裂が起こると脂質コアの圧力が血圧に等しくなり、線維性被膜の形状を変化させると言える。拡張したバルーンが硬いものに当たると、バルーンの非接触領域が拡張した。

研究成果の概要(英文)：By identifying the calcified regions by micro X-ray CT, observing cross sections of stained tissues with light microscopy, and performing a strain analysis with image correlation method, we obtained almost zero strain when there was a calcification in the fibrous cap which was in the vicinity of the luminal surface. Specimens with a thickness of 50 microns, which consisted of fibrous cap and lipid core, were damaged easily under stretching, which was quite different from the deformation behavior of specimens in the normal region. A finite element analysis of the carotid artery with intraplaque hemorrhage showed that a shape change of the fibrous cap was attributed to the equal pressure between the lipid core and the vascular lumen. An expanded balloon with an obstacle could expand its non-constrained regions to satisfy a designated volume change.

研究分野：生体力学

キーワード：粥状動脈硬化 線維性被膜 石灰化 プラーク内出血 バルーン ひずみ X線CT 画像相関法

### 1. 研究開始当初の背景

粥状動脈硬化症は脂質コアを覆う線維性被膜の破裂や動脈の強い狭窄から心筋や脳に存在する血管の梗塞のような重篤な疾患を引き起こす。超音波エコー・X線CT・MRIなどの画像から被膜の破裂を予測する診断技術を確立するには、それに先だち、解剖で得た病変部について組織性状の病理学的診断と材料力学的評価による基礎的裏付けが必要と考えた。

粥状動脈硬化の画像診断に関する課題としては、プラークの破裂箇所の決定因子の同定、プラークの状態と破裂しやすさとの関係、画像のみによる破裂予測の可否の問題などがあり、粥状動脈硬化病変部の数値解析に関する課題としては、患者別医用画像に基づいた頸動脈の3次元有限要素解析での破裂を評価する応力値の信頼性と、小さな混在物がプラーク破裂に及ぼす影響の問題などがある。

### 2. 研究の目的

粥状動脈硬化病変部の微視的な不均質性と周辺領域を含めた変形の非一様性という二つの因子が線維性被膜の力学的損傷と破裂に及ぼす影響を明らかにする。

粥状動脈硬化を有する動脈では、加齢に伴って慢性内膜肥厚が生じていたもの(組織学的観点からI型に分類)が、内膜への脂質の沈着が進んで大きな脂質コアを形成(IV型に分類)し、さらに進行すると被膜が線維化(Va型に分類)し、石灰化を伴う場合(Vb型に分類)もある。

本研究ではヒト剖検例や手術例の頸動脈や大動脈を対象として、動脈硬化病変部の不均質性に着目して、上述の影響に対して力学的観点から解明を試みる。

### 3. 研究の方法

動脈硬化病変を有するヒト動脈(頸動脈・胸大動脈)の剖検例と頸動脈の内膜剥離術の標本を採取して実験に供した。

(1) プラークを有する大動脈を平板状に切り取った。マイクロX線CT装置を用いて大動脈の輪郭形状を取得し、壁内で石灰化した領域の位置・大きさを同定した。図1のように大動脈標本の両端を固定して、自動ステージで一方方向に伸展し、線維性被膜とその周辺からなる領域の非一様な変形を得た。画像相関法により2次元のひずみ解析を行った(雑誌論文, 学会発表, 参照)。

粥状動脈硬化に石灰化を伴う胸部大動脈の剖検例に対してマイクロX線CT装置を用いて撮像し伸展試験を行ったケースのうち、石灰化の顕著な標本1例を選び、このCT画像を3次元可視化ソフトウェアで読み込んでSTL形式で出力し、それを基に3次元形状作成ソフトウェアを用いて有限要素解析で読み込めるように形状モデルを作成した。

続いて非圧縮等方超弾性体の血管壁と等方線形弾性体の石灰化領域からなるモデルに伸展試験条件を与えて有限要素解析を実行した(学会発表 参照)。

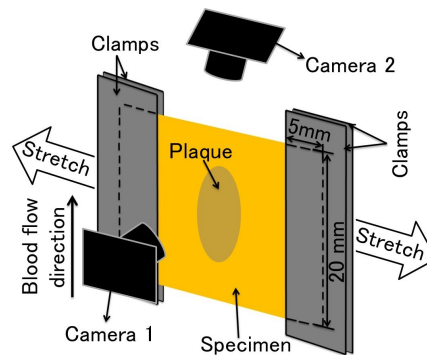


図1 プラークを含む大動脈標本の一方方向への伸展

(2)図2のようにクリオスタットで線維性被膜を厚さ50ミクロンにスライスして両側にテフタレート製フィルムを接着し、生理食塩水で満たした水槽に入れ、研究代表者らがこれまで用いてきたロードセル、レーザ変位計、ステップモータ駆動の自動ステージからなる試験機に設置し、鉛直方向に伸展した。また、近傍のスライスの病理学染色も行って、不均質性が線維性被膜の変形・損傷挙動に及ぼす影響を調べた(学会発表, 参照)。

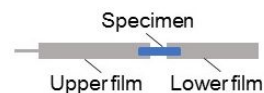


図2 薄切試験片と接着用フィルム

(3)プラーク内出血と破裂の見られる頸動脈プラーク病変を有する頸動脈(総頸動脈と内頸動脈, 外頸動脈)について、まず、内膜剥離術を施して摘出した組織の脂質コアと線維性被膜の形状モデルを作成した。これは内膜の領域であり、また、プラークの一部であるので、分岐した頸動脈モデルにするため、不足する領域を追加して、3次元の血管形状とした。さらに、血流のCFD解析を行って動圧分布を求めた。それを静圧に加えて圧力の境界条件とし、軸方向伸びとともに血管壁モデルに与えて有限要素解析を行い、変形挙動と形状変化を調べた(学会発表, 参照)。

(4)狭窄を有する動脈壁のバルーン拡張術に関して、大動脈弁置換手術用のバルーンに硬いリングを取り付ける場合と何も取り付けられない場合の2条件を与え、バルーン内に一定体積の水を注入して拡張する模擬実験を行って、バルーンの変形挙動を調べた(学会発表 参照)。また、軸対称有限要素解析を行って、リングにバルーンが接触した時の変形挙動も併せて調べた。

#### 4. 研究成果

(1) 剖検例から採取したヒト胸部大動脈に対して実施した実験 6 例について、粥状動脈硬化の生じたプラークの内皮面の変形に石灰化が及ぼす影響を分析して定量的に評価した。長方形の対象領域へのひずみ 5%の伸展に対して、内皮面でのひずみ最小値は、プラークのない場合に 2.3% (1 例)、プラークがあって石灰化のなかった場合に 0.4% から 0.8% (2 例)、プラークがあって石灰化が脂質コアのみに見られた場合に 0.6% (1 例)、プラークがあって石灰化が線維性被膜に見られた場合に 0.0% (2 例、図 3 はその一例)であった (雑誌論文 参照)。ひずみ零と評価された内皮表面の領域は石灰化して硬くなったか、内皮下に存在する硬い石灰化領域の影響が現れたものと考えられ、脂質コアのみで石灰化が見られた場合には、その影響が内皮面にある程度及ぶと考えられる。また、ソフトウェアを用いてCT画像から3次元の石灰化領域を抽出できた。

石灰化領域を含むプラークのある大動脈平板領域 (図 4 参照) について有限要素解析を行った結果、伸展試験での画像相関法によるひずみ解析結果と同様の非一様な変形挙動が再現された (学会発表 参照)。

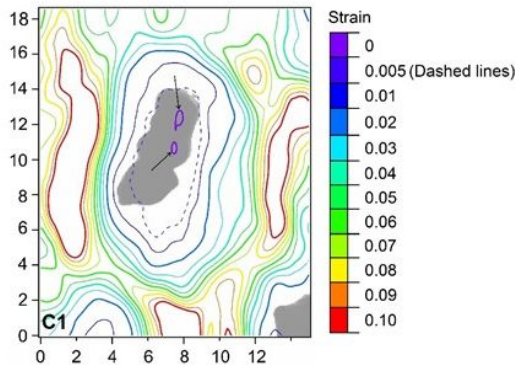


図 3 プラークのある大動脈を横方向に 5% 伸展したときの横方向の垂直ひずみ成分の分布。中央と右下に石灰化領域が存在する。

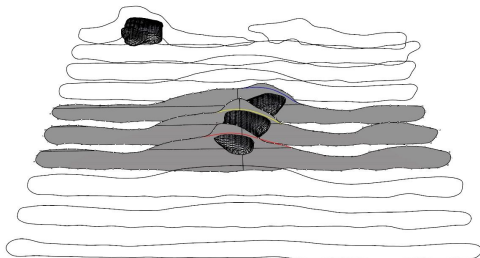


図 4 石灰化を有する大動脈標本のスライス断面。大動脈の板状標本のスライス断面の輪郭を示す。また、中央と左上の黒い領域が石灰化領域である。

(2) 頸動脈内膜領域の厚さ 50 ミクロンの薄膜化試験片の伸展試験と染色画像の光学顕微

鏡観察の結果、図 5 に示すように病変のない場合 (I 型) には損傷なしに大きな伸展性が見られたのに対し、粥腫が発達した場合 (IV, Va 型) には伸展途中で損傷が発生して破断に至った (学会発表 参照)。また、内膜部のバルク試験片の応力 - ひずみ関係 (学会発表 参照) と比べて、応力が明らかに小さかった (学会発表 参照)。

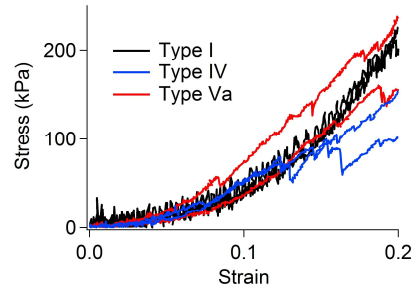


図 5 薄切試験片の応力 - ひずみ関係の例

(3) 大きな脂質コアを有する未破裂のプラークは肩部に応力が集中する傾向がある (学会発表 参照)。線維性被膜が破裂した頸動脈に内膜剥離術を施した臨床例について、超音波画像、組織標本、染色標本の光学顕微鏡像を利用して有限要素解析を実施し、未破裂のプラークの場合と比較して、プラークの力学的状態が線維性被膜の形態に及ぼす影響を調べた。解析によれば、未破裂プラークの内皮面は外側に凸の形状で、脂質コア内の圧力は血圧に比べて著しく小さい。一方、破裂してプラーク内出血が顕著な場合、脂質コア内は血圧と同程度の圧力となり、線維性被膜が内腔側に押されて移動した (学会発表 参照)。このように破裂したプラークの場合、線維性被膜の膜としての変形が狭窄の程度にも関わるものと推察される。また、超音波画像に見られる特徴的の形状は短軸断面の位置やプラーク内出血の修復によって変化するものと推察された。

(4) バルーンカテーテルの変形挙動と動脈硬化の発達した狭窄部位との関係を検討するため、石灰化などによりバルーンの変形が妨げられる場合を想定して、大動脈弁に用いられるバルーンの中央部分外周にフッ素樹脂製の円環を配置してバルーンを膨らませる実験を行った。その結果、バルーンは円環で変形が拘束されていない領域で外径が増加し、生体組織の側の変形拘束の程度によってバルーンの変形が異なることが明らかになった (学会発表 参照)。このことは、バルーンに内圧を負荷すると外力の有無にかかわらずに円筒状に変形するのではなく、バルーンは力学的境界条件の影響を受けながら変形することを示唆している。また、有限要素解析の結果は、バルーンが円環表面を滑って変形する様子を示した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

H. Esmaeili Monir, H. Yamada, N. Sakata, Y. Morita and Y. Nakashima, Assessment of the relationship between deformation characteristics and the presence of calcification in human atheromatous plaques using uniaxial stretching evaluations with digital image correlation, CT scanning and histological examination, Journal of Biomechanical Science and Engineering, Vol. 11, No. 3, 2016, p. 15-00611, DOI:10.1299/jbse.15-00611.

〔学会発表〕(計11件)

山田宏, 粥腫の生じたヒト頸動脈内膜に対する薄切試験片の伸展試験, 第40回日本バイオレオロジー学会年会, May 27, 2017, 川崎祐宣記念講堂(岡山県・倉敷市).

伊藤朋晃, TAVIにおける生体弁ステント部の不完全展開に関する力学的検討, 第40回日本バイオレオロジー学会年会, May 27, 2017, 川崎祐宣記念講堂(岡山県・倉敷市).

山田宏, ヒト頸動脈の薄片試験片の引張り変形特性と組織学的特性との関係の評価, 日本機械学会第29回バイオエンジニアリング講演会, January 20, 2017, ウィンクあいち(愛知県・名古屋市).

H. Yamada, Three-dimensional geometry of calcified regions and its correlation with luminal surface strains, 日本機械学会2016年度年次大会, September 12, 2016, 九州大学伊都キャンパス(福岡県・福岡市).

H. Yamada, Finite element modeling of a carotid artery with a healed plaque, The 12th World Congress on Computational Mechanics, July 28, 2016, Seoul (South Korea).

山田宏, 頸動脈プラークの破裂一症例に見られる特徴的形狀に対する力学的検討, 第39回日本バイオレオロジー学会年会, June 19, 2016, 東海大学校友会館(東京都).

H. Yamada, Mechanical characterization of the elastic properties of atheromatous plaques in the human carotid artery and thoracic aorta, International Conference on Advanced Technology in Experimental Mechanics 2015, October 7, 2015, Loisir Hotel (Aichi Prefecture, Toyohashi City).

H. Esmaeili Monir, CT scanning of aortic calcified plaque and strain measurement of luminal surface near calcification under uniaxial stretch, International Conference on Advanced Technology in Experimental Mechanics 2015, October 7,

2015, Loisir Hotel (Aichi Prefecture, Toyohashi City).

山田宏, 頸動脈プラーク肩部の応力状態への線維性被膜の影響(有限要素解析による検討), 第38回日本バイオレオロジー学会年会, June 6, 2015, 学術総合センター(東京都).

H. Esmaeili Monir, Image-based strain analysis of luminal surface in calcified human aortic plaque, 日本機械学会九州支部第68期総会・講演会, March 13, 2015, 福岡大学(福岡県・福岡市).

H. Esmaeili Monir, Measurement of strain distribution on human aortic wall surface with a plaque under uniaxial stretch, 日本機械学会九州支部大分講演会, September 20, 2014, ホルトホール大分(大分県・大分市).

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

山田 宏 (YAMADA, Hiroshi)  
九州工業大学・大学院生命体工学研究科・教授  
研究者番号: 00220400

(2)研究分担者

坂田 則行 (SAKATA, Noriyuki)  
福岡大学・医学部・教授  
研究者番号: 20134273

森田 康之 (MORITA, Yasuyuki)  
名古屋大学・大学院工学研究科・准教授  
研究者番号: 90380534