

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：17104

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23560091

研究課題名(和文) 剖検例ヒト頸動脈によるプラーク破裂に関わる材料力学情報と病理学情報との関係の解明

研究課題名(英文) Investigation of the correlation between mechanical information and pathological information on plaque rupture using human carotid arteries obtained at autopsy

研究代表者

山田 宏 (Yamada, Hiroshi)

九州工業大学・生命体工学研究科(研究院)・教授

研究者番号：00220400

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：プラークの発達に伴って形成される頸動脈と胸部大動脈の線維性被膜を正常領域と比べた結果、管軸方向の単軸引張りについて伸展性の顕著な低下と応力の顕著な増大が見られ、これはコラーゲンとI型コラーゲンの顕著な増大とエラスチンの顕著な減少と関連付けられた。また、プラークを有する頸動脈モデルの有限要素解析より、液体状の脂質コア内の圧力は血圧に比べて顕著に小さい結果が得られた。さらに、生理的内膜肥厚の生じた環状の頸動脈について、3層に分離して残留応力を解放して伸展試験と有限要素解析を実施することで各層の影響を評価する手法を併せて確立できた。

研究成果の概要(英文)：We compared the fibrous caps, which develop with plaques, with normal regions for human carotid arteries and thoracic aortas obtained at autopsy. A significant decrease of distensibility and significant increase of stress under uniaxial stretch were observed in fibrous caps, which were correlated with a significant increase of collagen and collagen type I as well as a significant decrease of elastin. We showed a significantly low level of pressure compared to the blood pressure through a finite element analysis of a carotid artery with a liquid-like lipid core. We also established an evaluation of the effect of three vascular layers in a ring-shaped coronary artery by stretching test of these layers and by finite element analysis with the initial geometry of these stress-released layers.

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：粥状動脈硬化 応力 - ひずみ関係 線維性被膜 プラーク コラーゲン エラスチン

1. 研究開始当初の背景

(1) 研究代表者は研究分担者と動脈硬化の生じやすい頸動脈に着目し、死亡した患者の剖検例から入手した血管試料を対象として材料力学特性と病理学的な評価との関係を調べてきた。内圧負荷試験用に選んだ比較的真直ぐな総頸動脈の中にプラークが存在するものがあり、内圧 - 外径関係の実験データに基づく応力解析を行った結果、正常な動脈壁とは明らかに異なる特徴的な応力・ひずみ分布が認められた。線維性被膜の破断を予測するには、応力解析だけでなく材料特性の情報が必須であると強く認識し、動脈硬化頻発部位の内頸動脈を用いた詳細な材料力学試験と応力・ひずみ解析を計画するに至った。

(2) 4年毎に開催される第6回バイオメカニクス世界会議(2010年8月)のセッション「動脈硬化性プラークのバイオメカニクス」で、世界の研究者における最新の成果が報告され、詳細な研究の必要性を認識した。

2. 研究の目的

動脈硬化が進んで脂質コアを覆う線維性被膜が破裂すれば、流出した脂質コアを含む血栓が脳梗塞や心筋梗塞を引き起こす。近年、病変部がMRIや超音波エコーで可視化され、応力や壁弾性率に基づいて被膜の破裂可能性や動脈硬化進行度が評価されている。このうち被膜の破裂予測の信頼性向上は応力状態と材料特性の情報が両方揃って初めて実現する。そこで本研究では、死亡した患者の解剖例の血管標本を用いて線維性被膜を有する病変部の力学的情報と病理学的情報との関係を調査・解明し、臨床診断情報と関連づけて破裂予測の信頼性を向上させる。

3. 研究の方法

(1) 福岡大学医学部と福岡赤十字病院の倫理規則に則り、剖検において頸動脈あるいは胸部大動脈(上行大動脈を含む)を採取し、プラーク領域と正常領域を材料力学試験と病理学染色標本に供する。

(2) 伸展試験システムを構築し、生理食塩水の温度を温度37に保って帯状試験片を鉛直方向に一定速度で伸展し、荷重と変位の時系列データを取得できるようにする。また、血管表面への微粒子の吹きつけとマクロレンズを付けたカメラの連続撮影によりひずみ分布画像を取得できるようにする。

(3) 材料力学試験では二種類の試験を行う。正常領域の動脈を同心円状に三層に分離する。三層は、内膜と内膜側の中膜からなる層、外膜側の中膜からなる層、外膜の三つである。それぞれについて円周方向の単軸伸展試験を実施し、荷重と変位の時系列データを取

得する。プラーク領域の線維性被膜と正常領域の内膜側領域に着目し、その領域を血管壁から切除する。管軸方向に伸展する試験片はつかみ具間距離4mm、幅1mm、厚さ1mm弱の寸法である。ひずみ範囲10%の予負荷の後、ひずみ速度1%/sで鉛直方向に伸展し、荷重と上つかみ具変位の時系列データを取得する。その際、微粒子を吹きつけた試験片表面をマクロレンズ付きカメラで連続撮影し、同時に、側面の画像撮影を行う。

(4) 材料力学試験で得られたデータは次のように処理する。まず、項(3)の実験については、荷重と変位の関係を公称応力と公称ひずみの関係に変換して整理する。また、採用した非圧縮等方超弾性のひずみエネルギー密度関数中の材料定数を公称応力 - 公称ひずみ関係に合うように決定する。項(3)の実験については、試験片表面の粒子を利用して試験片の伸びとつかみ具間の伸びとの関係を求め、試験片のひずみを荷重の時系列データと同期させて公称応力 - 公称ひずみ関係を求める。また、一部のデータについてデジタル画像相関法に基づいてひずみ解析を行う。

(5) 有限要素解析では二種類の解析を行う。

液状の脂質からなる脂質コアが形成されたプラークが一つ存在する頸動脈の一部を対象として3次元・面对称の有限要素モデルを作成する。プラーク領域は体積弾性率で定まる力学特性を有する静止流体とし、その他の血管壁領域は均質な非圧縮等方超弾性体とする。これに管軸方向一定伸びと血圧を与えて生理的負荷状態での応力解析を行う。環状の正常な頸動脈を対象とする。内膜(中膜の内側側を含む)、中膜、外膜に分離して残留応力を解放した形状を初期形状として有限要素解析を実施する。まず、元の環状の血管壁に戻し、次に管軸方向一定伸びと血圧負荷を与えて、応力・ひずみ分布を調べる。

(6) 材料力学試験用試験片に隣接する領域における病理学染色標本の作製・評価を行う。コラーゲンはPicro-Sirius red染色を行って光学顕微鏡観察により、I型コラーゲンはPicro-Sirius red染色を行って赤の偏光像観察により調べ、弾性線維は修飾Movat染色を行って光学顕微鏡観察により、それぞれ画像中の面積を測定して評価する。また、得られた結果を材料力学特性と比較して関連性を評価する。

4. 研究成果

(1) 図1のような伸展試験システムを作製して、次の機能を実現した。水槽を生理食塩水で満たし、水槽の底に配置したチューブに恒温槽から一定温度の湯を循環させて温度を37に保った。帯状試験片の上下を把持する小型のつかみ具を設計し、試験片伸展時の

上下移動に対する水の表面張力の変動をなくした。自動ステージの細かな移動によって試験片を滑らかに伸展できるようにした。ロードセルで試験片の荷重を測定し、レーザ変位計で上下のつかみ具間の変位を測定した。デジタルカメラの動画機能で試験片側面を撮影し、マクロレンズ付デジタルカメラの連写機能を用いて微粒子を付した試験片内皮面を測定した。(学会発表, 参照)

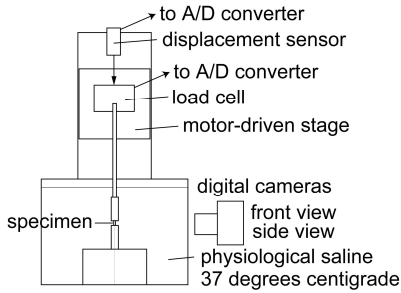


図1 伸展試験システム

(2) 剖検例で採取した頸動脈と上行大動脈を用いて、層ごとの単軸伸展試験を行った。その一例を図2に示す。本試験によって、各層の変形特性の違いを示すことができた。このうち頸動脈の内中膜、中膜、外膜の単軸伸展下の応力-ひずみ曲線は項(6)の有限要素解析に用いた。(学会発表, 参照)

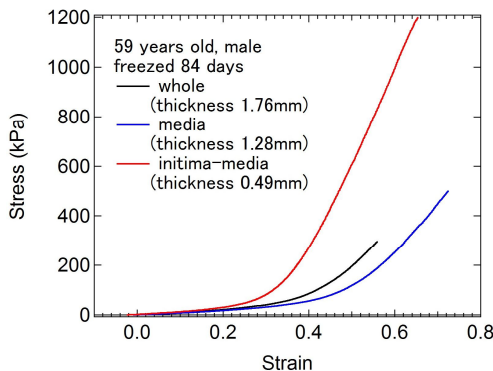


図2 上行大動脈壁全体、中膜、内中膜の単軸伸展試験による円周方向の応力-ひずみ関係

(3) 幅 1.5mm, 長さ 4mm 程度の領域の試験片表面のひずみ分布の解析を行った。その結果、せん断ひずみは垂直ひずみ成分の大きさに比べて無視できるほど小さかった。また、伸展方向には引張りひずみが生じ、領域によるばらつきが若干見られた。横方向には圧縮ひずみが生じ、それについても領域によるばらつきが若干見られた。(学会発表 参照)

(4) 頸動脈を白色プラークの線維性被膜(62~72歳, 4試験片), 黄色プラークの線維性被膜(72歳と88歳, 2試験片), 発達した脂肪斑(63~88歳, 5試験片), 正常領域(57~84歳, 9試験片)の4種類に分類して伸展した結果, 線維性被膜は正常領域に比べて著しく

硬化し, ひずみ量が顕著に減少し, 応力が顕著に増加した。応力50kPaでの平均のひずみ量は, 白色プラークの線維性被膜, 黄色プラークの線維性被膜, 発達した脂肪斑, 正常領域の順に0.06, 0.09, 0.08, 0.24であった。また, 頸動脈の線維性被膜の強度あるいは正常な伸展の上限は応力1.2 MPaから1.7 MPa程度であった。これは正常領域の0.3 MPaから0.7 MPaと比べて著しく増大していた。プラーク領域では同じ円周状の正常域に比べてひずみが小さい傾向にあるが, これは線維性被膜から正常域までのいずれの箇所で破断するか解明する基礎情報となる。図3に頸動脈の白色プラークと正常領域に対するコラーゲン量, エラスチン量と単軸伸展試験での応力50 kPaでのひずみ量との関係を表す近似直線と年齢の比較を示す。正常例では, コラーゲン量とエラスチン量は応力50 kPaでのひずみ量によらず概ね同程度であった。また, 白色プラークの線維性被膜では, 応力50 kPaでのひずみ量が小さいほうがコラーゲン量は多く, エラスチン量は少なかった。以上, 組織成分量と力学特性を定量的に関係づけて, プラークの破裂等を推定する上での基礎的情報を提供できる。(学会発表, 参照, 第37回日本バイオレオロジー学会年会学会にて発表)

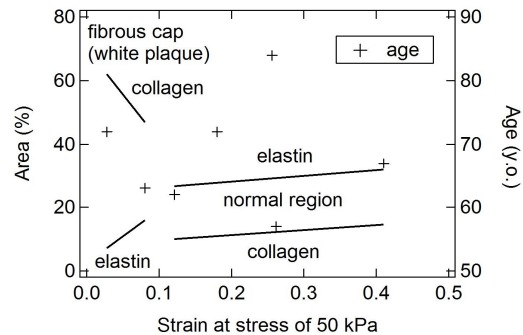


図3 頸動脈の白色プラークと正常領域のコラーゲン・エラスチン量と単軸伸展試験での応力50 kPaでのひずみ量, 年齢との比較

(5) 一つ目の有限要素解析では, 脂質コアを有するこれまでの2次元モデルを発展させて3次元モデルを作成し, 生理的負荷条件下

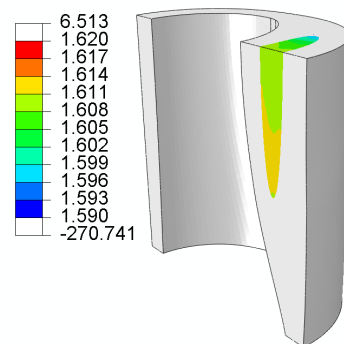


図4 血圧16 kPaを受けたときの脂質コアの圧力分布(単位: kPa)

での脂質コア内の流体圧は血圧に比べて著しく低いことを示した。すなわち、薄板状の有限要素モデルの場合、脂質コア内の圧力は血圧 13 kPa のときに 1.7 kPa 程度、血圧 16 kPa のとき 1.9 kPa 程度だった。また、脂質コアを有する頸動脈の 3 次元・面对称の有限要素モデルでの血圧 16 kPa での脂質コア内の圧力は図 4 に示すように 1.6 kPa 程度であった。(雑誌論文 参照)

(6) 二つ目の有限要素解析では、高齢者の正常な頸動脈を 3 層に分離し、それぞれについて円周方向の単軸伸展試験を行って非線形弾性特性の同定を行い、残留応力解放形状を初期形状とした生理的負荷条件での有限要素解析を実現した。その結果、無応力状態での層の曲率によって生理的負荷状態での応力状態が顕著に異なった。(学会発表, 参照)

(7) 頸動脈の白色プラークの線維性被膜 (72 歳), 黄色プラークの線維性被膜 (72 歳), 正常領域 (57 歳) と胸部大動脈の白色プラークの線維性被膜 (66 歳), 黄色プラークの線維性被膜 (66 歳), 正常領域 (64 歳) の応力 0 ~ 200 kPa での応力 - ひずみ曲線に対して、非圧縮等方超弾性体モデルの一つである Ogden モデルを採用して、材料定数の同定を行った。頸動脈の結果を図 5 に示す。頸動脈、胸部大動脈とも白色プラークのほうが黄色プラークよりも一頂からなるモデル中の材料定数の値が大きかった。また、正常例ではいずれの血管も 2 頂のモデルとしたときによく近似できた。(日本機械学会 M&M2014 材料力学カンファレンスにて発表予定)

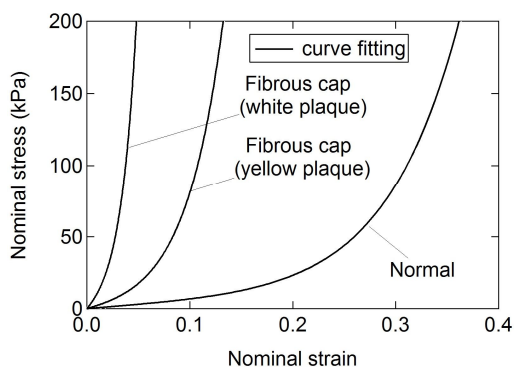


図 5 頸動脈の典型的な応力 - ひずみ関係に対して非圧縮等方超弾性の Ogden モデルを用いてカーブフィッティングを行った結果

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

H. Yamada and N. Sakata, Low pressure condition of a lipid core in an eccentrically developed carotid atheromatous plaque: A static finite element analysis, Journal of Biorheology, 査読有, Vol. 27, 2013, pp. 9-17, DOI: 10.1007/s12573-012-0051-x.

[学会発表](計 10 件)

山田 宏, 頸動脈と大動脈の動脈硬化病変部線維性被膜の伸展性の比較評価, 日本機械学会九州支部第 67 期総会・講演会, March 14, 2014, 北九州市.

山田 宏, 頸動脈剖検例における動脈硬化性及び正常内膜層の伸展性と組織学的特徴の評価, 日本機械学会第 26 回バイオエンジニアリング講演会, January 12, 2014, 仙台市.

山田 宏, 大動脈線維被膜の単軸伸展下での変形挙動解析と力学特性の評価, 日本機械学会 M&M2013 材料力学カンファレンス, October 12, 2013, 岐阜市.

H. Esmaili Monir, Finite element modeling of human common carotid artery using layer-separated mechanical properties and stress-free configurations, 7th Asian Conference on Biomechanics, August 30, 2013, Seoul.

山田 宏, 粥状動脈硬化斑の伸展試験, 第 36 回日本バイオレオロジー学会年会, June 8, 2013, 福岡市.

H. Esmaili Monir, Finite element analysis of a ring-shaped blood vessel using the mechanical properties of its intima and media, 日本機械学会 M&M2012 材料力学カンファレンス, September 22, 2012, 松山市.

山田 宏, 上行大動脈の内膜・中膜層を二層に分離して得た帯状試験片に対する単軸伸展試験, 日本機械学会 2012 年度年次大会, September 12, 2012, 金沢市.

山田 宏, 単軸伸展試験による非動脈硬化性上行大動脈瘤の伸展性の評価, 第 35 回日本バイオレオロジー学会年会, June 1, 2012, 新潟市.

山田 宏, 単軸伸展試験による大動脈解離症大動脈の力学的評価, 第 51 回日本生体医工学会大会, May 12, 2012, 福岡市.

山田 宏, 残留応力を解放した環状血管壁に対する単軸伸展下での有限要素解析, 日本機械学会第 24 回バイオエンジニアリング講演会, January 8, 2012, 豊中市.

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