

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 25 日現在

機関番号： 34419  
 研究種目： 若手研究 (B)  
 研究期間： 2010 ～ 2011  
 課題番号： 22700484  
 研究課題名 (和文) 骨・腱付着部の構造－機能関係と力学的適応機構  
 研究課題名 (英文) Structure-function relationship and remodeling  
 of the insertion site between bone and tendon tissues

研究代表者  
 山本 衛 (YAMAMOTO EI)  
 近畿大学・生物理工学部・准教授  
 研究者番号： 00309270

研究成果の概要 (和文) : 本研究では、力学的負荷に対する生体組織の最適構造に関する基礎的知見を得ることを目的としている。そこで、骨、骨-腱複合体、もしくは骨-靭帯複合体に非弾性的かつ非破断的な過負荷を作用させ、その後の残存強度を測定した。また、骨-腱複合体の試料に対して、酵素処理を施し、各構成成分の変化が複合体の力学的挙動に及ぼす影響について検討した。得られた実験結果は、骨、腱・靭帯、およびそれらの付着部のそれぞれの変形挙動や損傷形態が、力学的負荷の様式、組織成分、部位に依存する可能性を示した。

研究成果の概要 (英文) : In the present study, our final goal was to obtain an insight into the mechanisms of adaptation to mechanical stresses in musculoskeletal tissues such as bones, tendons, and ligaments. Mechanical behavior after non-destructive overloading was measured for bone specimens as well as bone-tendon and bone-ligament complexes. Moreover, we studied the mechanical properties of bone-tendon complexes treated with enzymes. The results obtained show the possibility that the deformation behavior and failure modes of bones, tendons, ligaments, and the insertion site between bones and tendons.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学，生体材料学

キーワード：バイオメカニクス

## 1. 研究開始当初の背景

生体組織の形状や特性は、合目的的に最適設計されていると考えられており、このような部位は生体内の随所で観察される。また、生体は一定の範囲内の環境変化に対して、ホメオスタシス（恒常性）を維持しながら、組

織をリモデリング（再構築）し、機能的に適応する。この現象は、生体組織が自己修復機能を有することを示しており、非生命体には存在しない優れた特徴である。近年、腱や靭帯の力学的特性や組織のリモデリング（再構築）に関する研究が盛んに行なわれるようになり、整形外科領域における治療法の開発、

スポーツにおけるトレーニング法の改良，人工靭帯用材料の開発等の分野に大きく貢献しつつある。

生体内で骨や腱・靭帯組織には，常に何らかの力学的負荷が作用しているとともに，それらの負荷の大きさや様式は生活環境や運動条件などによって大きく変化する。また，各組織が曝されてきた力学的環境のもとで生じる損傷は，疲労性の外傷や機能低下などの疾患のみならず，組織の健全性維持と密接に関連していることが知られている。しかしながら，骨や腱・靭帯，ならびにそれらの付着部位における部分的な損傷は，発生要因や損傷形態が多様であることから，損傷メカニズムの解明はもとより，現象の把握も十分に行われていないのが現状である。

## 2. 研究の目的

本研究では，力学的負荷に対する生体組織の最適構造に関する基礎的知見を得ることを目的としている。そこで，骨，骨-腱複合体，もしくは骨-靭帯複合体に非弾性的かつ非破断的な過負荷を作用させ，その後に残存強度の評価を実施した。また，骨-腱複合体の試料に対して，コラゲナーゼやエラスターゼによる酵素処理を施し，各構成成分の変化が複合体の力学的挙動の及ぼす影響について検討した。さらに，異なる付着部構造を有する膝蓋腱，内側側副靭帯，前十字靭帯，後十字靭帯より組織小片を対象として，培養環境下における形態変化の観察を行った。本研究の結果は，臨床医学分野や基礎生物学分野における諸問題の解決に対しても，基礎的情報を提供する端緒となるものと推察される。

## 3. 研究の方法

成熟日本白色家兎 12 羽(雌, 3.1 ± 0.2 kg, Mean ± S.D.) の両脚膝蓋腱，計 16 本を試料として用いた。各個体の両下肢より膝蓋骨-膝蓋腱-脛骨複合体を摘出した。この状態のままでは，試験装置に取り付けるのには適していないため，膝蓋骨と脛骨をそれぞれアルミカップにポリメチルメタクリレートで固定した。膝蓋腱は全体で試験を実施すると，腱実質部で破断せずに付着部での破断が頻発することが知られている。そこで本研究では，膝蓋腱中央約 1/3 のみを実験に使用した。ひずみ計測用のマーカーとして，長軸方向に離れた 2 本の線を腱組織実質部に染料(ニグロシン)で印した。レーザ変位計を 2 台組み合わせ構成された生体軟組織用断面積測定装置を使用して，試料の断面積を測定した。試料の長軸方向に 0.5 N の負荷が作用するように錘を吊り下げながら，2 本のレーザを同時に試料表面へ照射することで試料の厚みを求め，この測定を 0.1 mm 間隔で試料幅全体に対して実施した。その後，得られた測定

値をもとに試料の断面を多角形近似することで，断面積を算出した。断面積は膝蓋腱中央及びその上下 5 mm の位置の合計 3 カ所で測定し，それらの平均値を試験片の断面積とした。引張試験中に一樣な荷重を膝蓋腱に作用させるために，脛骨側を 45° 傾けて試験機に取り付けることのできる治具と 37°C の生理食塩水中で試験を行えるような恒温槽付きアクリル製二重水槽を使用した。これらを組み込んだ万能材料試験機 (AGS-H, 島津製作所) を用いて引張試験を実施した。また，ひずみの計測には，膝蓋腱実質部以外で生じるひずみを除去した計測を行うことができるようビデオディメンジョンアナライザ (C3160, 浜松ホトニクス) を使用した。

右脚膝蓋腱を比較対照群 (n = 12)，左脚膝蓋腱を過負荷群 (n = 12) の試料とした。比較対照群の試験では，まずプリロード 0.5 N を作用させた後，ゼロ点を設定し，引張速度 20 mm/min，変位 0.5 mm の繰り返し変形を 10 回作用させるプリコンディショニング試験を実施した。その後，同じ速度で試料が破断するまで試験を行った。一方，過負荷群の試料には，比較対照群と同様にプリコンディショニング試験を行った後，各個体の反対脚側の試料で求められた破断応力の 90% と等しくなるような過負荷を引張速度 20 mm/min で試料に作用させた。この際には，負荷様式の相違を調べるために，負荷後直ちに徐荷して単一的に作用させる群 (単一過負荷群) 並びに負荷を 12 時間にわたり持続的に作用させる群 (静的過負荷群) を設定した。過負荷後には，設定されたゼロ点の位置まで戻し，非回復性の残存ひずみを計測した。その後，再び比較対照群と同条件でプリコンディショニング試験を実施した後，破断にいたるまでの負荷試験を行った。一方，家兎 15 羽の内側側副靭帯を使用して，腱とは異なる付着部構造をもつ靭帯に部分的な損傷を生じさせるために，靭帯試料に過負荷を作用させた実験も実施した。

さらに，力学的特性の評価が行うことが可能であるとともに，酵素処理による変化が認められる範囲の条件として，コラゲナーゼ溶液 (0.13 unit/ml) 中に 3 時間，もしくはエラスターゼ溶液 (0.19 unit/ml) 中に 12 時間腱試料を浸漬させた。何も処理を施していない群を比較対照群，コラゲナーゼ溶液およびエラスターゼ溶液に浸漬させた試料を，それぞれコラゲナーゼ処理群とエラスターゼ処理群とした。各群の試料に対して，引張試験を実施して力学的特性を求めた。さらに，膝蓋腱，内側側副靭帯，前十字靭帯，後十字靭帯の試料の培養環境下における形態変化を観察した。培地を満したシャーレに試料を静置し，炭酸ガスインキュベータ内で 2, 4, 6, 8 日培養後に位相差顕微鏡を用いて，線維

芽細胞の外走を含めた組織形態を調べた。

#### 4. 研究成果

非破壊的な過負荷作用後の腱組織には、相当な大きさのひずみが残存していた。単一過負荷群と静的過負荷群の残存ひずみは、それぞれ  $1.6 \pm 1.0\%$  と  $3.4 \pm 1.7\%$  であった。負荷作用時間の増加によって、残存するひずみ量は大きくなる傾向はみられたものの、単一過負荷群と静的過負荷群の間に有意差は認められなかった ( $p = 0.058$ )。3つの実験群（比較対照群、単一過負荷群、静的過負荷群）の応力-ひずみ線図に、明確な形状の違いはみられなかった (Fig. 1)。静的過負荷群の引張強度 ( $16.3 \pm 5.8$  MPa) は、比較対照群 ( $36.7 \pm 12.3$  MPa) と単一過負荷群 ( $32.4 \pm 12.4$  MPa) よりも有意に低値であった。さらに、弾性範囲内での組織の特性を示す接線係数でも、比較対照群、単一過負荷群、静的過負荷群の順に低値となる傾向が認められた。しかしながら、各群の破断ひずみに有意な相違はみられなかった。Fig. 2 に、過負荷作用後に生じる腱組織の残存ひずみと強度低下の関係を示す。過負荷群では、大きな残存ひずみが生じている腱組織ほど、より顕著な強度低下が認められ、このような関係は、単一過負荷群、静的過負荷群の両方で確認された。また、コラゲナーゼ処理群とエラスターゼ処理群の破断ひずみは、それぞれ約 10% と約 8% となっており、比較対照群よりも高値となる傾向がみられた。特に、コラゲナーゼ処理群では骨と腱の付着部での伸展性が顕著となることが観察された。

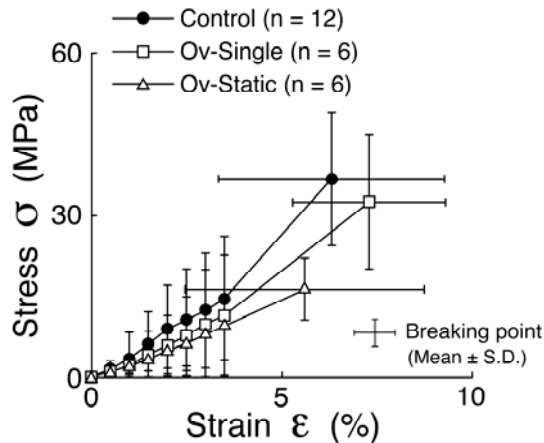


Fig. 1 Stress-strain curves in the Control and Overload groups.

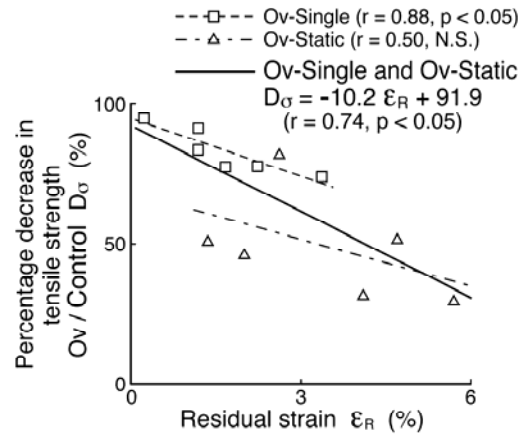


Fig. 2 Relations between the residual strain and strength reduction.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 山本衛, 梶原祥史, 過負荷作用後に生じる腱組織の残存ひずみと強度低下の関係, 日本機械学会第 24 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集 (CD), 2012 年 1 月 8 日, 大阪.
- ② 山本衛, 半田泰章, 生活習慣病モデルラットより摘出した骨組織の生体力学的特性評価, 日本実験力学学会 2011 年度年次講演会講演論文集, pp. 293-295, 2011 年 8 月 31 日, 奈良.
- ③ Yamamoto, E., Matsumoto, Y., Nakayama, Y., Microdamage accumulation in cortical bone under compressive overloading, Proceedings CD of the 5th International Symposium on Advanced Science and Technology in Experimental Mechanics (ISEM), 2010 年 11 月 7 日, 京都.
- ④ Yamamoto, E., Matsumoto, Y., Nakayama, Y., Comparison of microdamage formation in cortical bone under single, static, and cyclic non-destructive overloading, 6th World Congress of Biomechanics, Abstracts of the 6th World Congress of Biomechanics, pp. 403, 2010 年 8 月 3 日, シンガポール.

[図書] (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.waka.kindai.ac.jp/tea/ei/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山本 衛 (YAMAMOTO EI)  
近畿大学・生物理工学部・准教授  
研究者番号：00309270

### (2) 研究分担者

無し

### (3) 連携研究者

無し