

眼球組織の力学的特性の測定

須長 純子^{a)b)}, 横田 秀夫^{b)c)}, Cristian TEODOSIU^{c)},
佐藤 嘉兵^{a)b)}, 牧野内 昭武^{c)}, 姫野 龍太郎^{b)}

^{a)} 日本大学大学院 応用生命科学専攻

神奈川県藤沢市亀井野 1 8 6 6

e-mail: j-sunaga@postman.riken.go.jp

^{b)} 理化学研究所 生体力学シミュレーション特別研究ユニット

埼玉県和光市広沢 2 - 1

^{c)} 理化学研究所 もの作り情報技術統合化研究プログラム

埼玉県和光市広沢 2 - 1

1. はじめに

近年、社会の高齢化に伴い網膜剥離患者が増加している。治療には、眼球を外側から圧迫する輪状締結手術が行われており、この手術では眼球を変形させる量によりその予後が左右される。これまで、その締め付け量や締め付け部位、シリコンパットの選定は医師の経験や勘により行われていたため、術前に変形量を予測することが求められている。網膜剥離に対する輪状締結手術のシミュレーションを実現させるためには、眼球モデルの構築が不可欠である。このような生体デジタルモデルの構築には三次元構造に基づく詳細なメッシュモデルと各要素にあてはめる力学的特性が不可欠となる。第一段階として、医療分野における眼球組織の研究で多く用いられている豚眼球を使用した。我々のグループにより豚眼球において詳細なメッシュモデルの構築は、三次元構造の画像データの取得より行われている。一方それにあてはめる詳細な力学的特性については明らかではない。術前シミュレーションの正確性は力学的特性の精度により左右されるため、詳細な力学的特性の測定が求められる。

眼球は強膜、脈絡膜、網膜、角膜、水晶体、硝子体等の軟組織により構成¹⁾され、眼球内部からの圧力と眼球周辺の筋肉、脂肪、神経等の組織からの圧力により形状を保っている。これまでの眼球を対象とした力学シミュレーションでは衝突実験や視力矯正手術のための角膜を対象とした研究が多くなされている²⁾³⁾。しかし網膜剥離に対するシミュレーションは我々のグループ以外では行われていない⁴⁾⁵⁾⁶⁾。そのため、網膜剥離に大きく関与している強膜、脈絡膜、網膜に関する詳細な力学特性の報告は

なされていない。そこで、眼球組織の詳細な力学特性を測定することを目的として、引張り試験を行った。

眼球の引張り試験では、眼球が球形の層状組織から構成されているために、大きな試験片ではその曲率が問題となる。そのため、試験片は小さくせざるを得ず、全長が数ミリメートルの軟組織を対象とした実験システムが必要である。既報⁴⁾の引張り試験装置と対象試料をリング状に切り出す試料打ち抜き装置を用いて、豚眼球の脈絡膜、強膜、水晶体前嚢を対象に応力ひずみの関係を測定した。

2. 試料打ち抜き

2-1. 打ち抜き装置

開発した打ち抜き装置を図1に示す。リング状ナイフを装置の可動部に取り付け、垂直移動させることで試料を切り抜く。図2にリング状ナイフの構造を示す。2.97mmの内向きステンレスと2.07mmの外向きステンレス刃の2本の円筒を組み合わせて同心円状に固定した。また、図2上に示す様にその先端を研削加工により15°に刃付けした。内側の刃と外側の刃の間に試験片が切り抜かれる。



図1. 打ち抜き装置

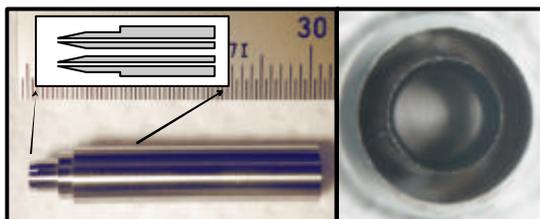


図2. リング状ナイフ

2-2. 切り出し実験

供試試料は実験当日早朝、屠殺場にて摘出された豚眼球を入手し、屠殺から15時間以内に実験を行った。豚眼は眼球とその周囲の組織が付着した状態で5下にて輸送され、到着後直ちに筋肉、まぶた等を除去し洗浄した。図3に示す様に眼球切断器具とマイクローム用ナイフで切断し、脈絡膜、強膜試料はその後ろ側を用いた(図3上)。切り出し位置は神経束を基準に時計に見立て、12時、6時の位置を決めた。また、左右の眼球は同じ形状では無く対称形をしていることから、解剖学知識に基づいて眼球の鼻側を3時、その逆側を9時として4方向を設定した。試料は直径8mmのトレパンで切り出し、ピペットを用いて水流で網膜と硝子体を除去した。この試料片をデンタルワックスにのせ、打ち抜き装置により、リング状の試験片に切り出した。さらに、実体顕微鏡下でピンセットにより脈絡膜と強膜を分離し、リング状の試験片を得た(図4-a)。

一方、水晶体は摘出した後、水晶体前囊のみを切り出し、同様に打ち抜き装置にてリング状試験片を得た(図3下、図4-b)。試験片は引張り試験開始まで、Phosphate Buffer Saline (PBS) 中に4℃で保存した。引張り試験前に分解能1 μ mのCCDレーザー変位計(LK-030:KEYENCE)を用いて試験片の厚さを4点測定した。脈絡膜試験片9時の位置、強膜試験片9時の位置および水晶体前囊における厚さ測定の一例を表1~3に示す。

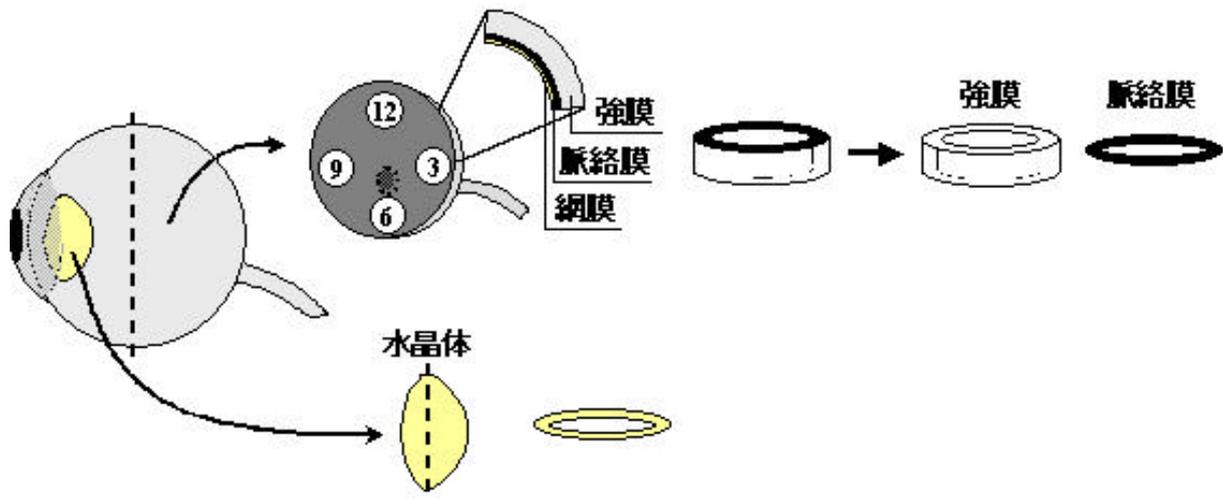


図3. 試験片の切り出し

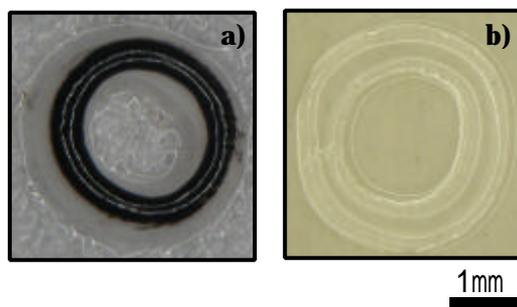


図4. リング状試験片

表1. 脈絡膜試験片厚さ測定(9 o'clock)

Sample No.	1	2	3	4
厚さ(mm)	0.150	0.220	0.201	0.270
	0.205	0.160	0.200	0.140
	0.171	0.160	0.162	0.145
	0.196	0.191	0.178	0.198
平均	0.181	0.183	0.185	0.188

表2. 強膜試験片厚さ測定(9 o'clock)

Sample No.	1	2	3	4
厚さ(mm)	1.64	1.20	1.50	1.35
	1.81	1.23	1.30	1.47
	1.26	1.43	1.41	1.50
	1.23	1.70	1.67	1.35
平均	1.49	1.39	1.47	1.42

表3. 水晶体前囊試験片厚さ測定

Sample No.	1	2	3	4
厚さ(mm)	0.082	0.087	0.082	0.079
	0.098	0.087	0.106	0.086
	0.072	0.078	0.089	0.077
	0.084	0.093	0.089	0.100
平均	0.084	0.086	0.094	0.086

3 . 引張り試験

3 - 1 . 引張り試験装置

図5に引張り試験装置の模式図を示す。既報⁴⁾の引張り試験装置にマクロレンズとCCDカメラ (JK-TU52H : Toshiba) 、レーザーディスク (LQ-D5500 : Panasonic) 、時間軸調整のためのマーカライトを付け加えたものを用いた (図6) 。引張りストロークは4mm、分解能は1 μ mである。ロードセルは最大2Nおよび10Nの検出が可能な2種を、組織の力学特性に応じて用いた。また、較正試験により各々1mN および50mN以下の精度で検出が可能であることが確認できている。

これらのデータをサンプリング周波数 200Hz でオシロスコープ (NR-2000 :

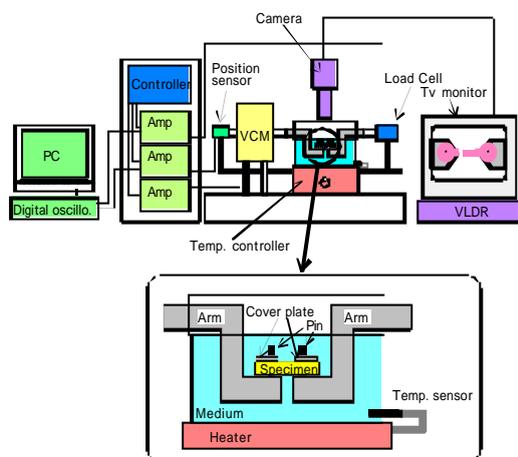


図5. 引張り試験装置模式図

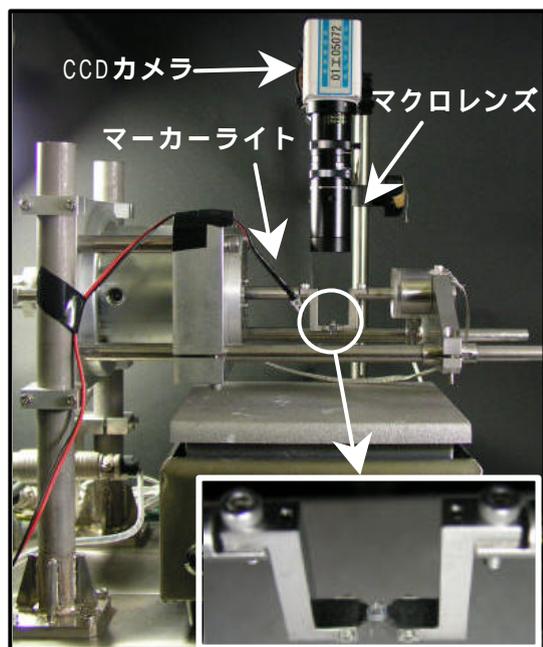


図6. 引張り試験装置装置外観

KEYENCE) に記録した。さらに、引張り試験時の様子をマクロレンズとCCDカメラを用いて視野 11.6 × 8.73mm で撮影し、レーザーディスクにビデオレート (30frames/sec) で保存した。なお、オシロスコープと撮影画像の時間軸は、引張り試験直前にマーカライトを点灯し、その電圧と画像を記録することにより同期可能とした。

3 - 2 . 引張り試験

切り出し実験により得られた豚眼の脈絡膜、強膜、水晶体前囊試験片を引張り試験に用いた。引張り試験はPBS中にて行った。リング状試験片を引張り試験装置の2本のピンにかけ、片側のピンを動かして、移動量と力の関係を測定した。

本実験では、脈絡膜は眼球の測定部位による差異および引張り速度依存性。水晶体前囊は引張り速度依存性。強膜は環境温度依存性、眼球の測定部位による差異、引張り速度依存性、組織繊維の異方性における応力 - ひずみの関係を測定した。破断の有無に関わらず移動側ピンを初期位置から4mmまで引張りを行い、引張り速度は試験装置の位置制御を用いて、0.5、0.1、0.01mm/sec の3速度、PBS温度は室温 (25

±1) 37±1 の2温度において測定を行った。脈絡膜および水晶体前囊は試料が薄く、柔軟であり、ハンドリングが困難であったため、室温条件下での測定を行った。

3-3. 引張り試験結果

図7、11、13に各試験片におけるの引張り開始から破断までの様子を順に示す。各試料ともに引張り開始前を(a)、ピンが試験片の内径に接した状態を(b)、試験片の上辺と下辺が平行になった状態を(c)に示した。各状態における可動側のピンの位置をそれぞれ L_0 、 L_d 、 L_s とした。 L_d 、 L_s に達する移動量は、切り出し時に試験片の内径とピン間距離を画像処理した値から求めた。

3-3-1. 脈絡膜引張り試験結果

図8に引張り開始からの移動量?力の関係とピンの位置を併せて示す。移動量?力の関係は非線形であり、引張り開始直後は力が非常に小さく、可動ピンがある移動量を超えると、その増加にしたがい力が急激に増加した。 L_d から L_s までの力の増加量は非常に小さく、 L_s 以降で急激に大きくなっている。 L_d - L_s 間にかかる力は、リング状試験片の変形によるものと考えられる。よって L_s 以降で生じる力が引張りに起因しているものと考えられる。また、シリコンゴムの引張り試験により上記の測定方法が正しいことを確認している。

図9に脈絡膜においての、測定部位による応力?ひずみの関係を示す。図7の(c)形状を2本の棒状試験片と仮定し、応力?ひずみの関係を求めた。測定部位により応力?ひずみの関係に差異があった。12時の位置が最も硬く、6時の位置が最も柔軟であった。

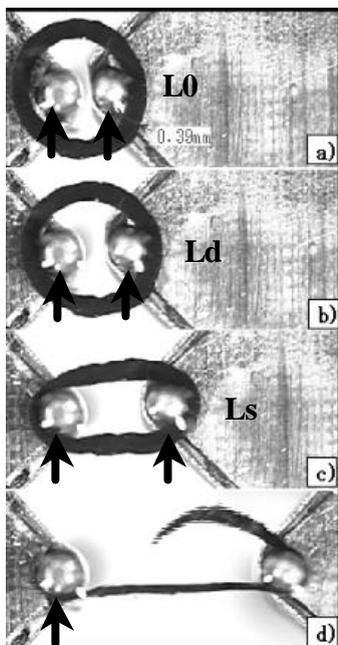


図7. 脈絡膜引張り試験

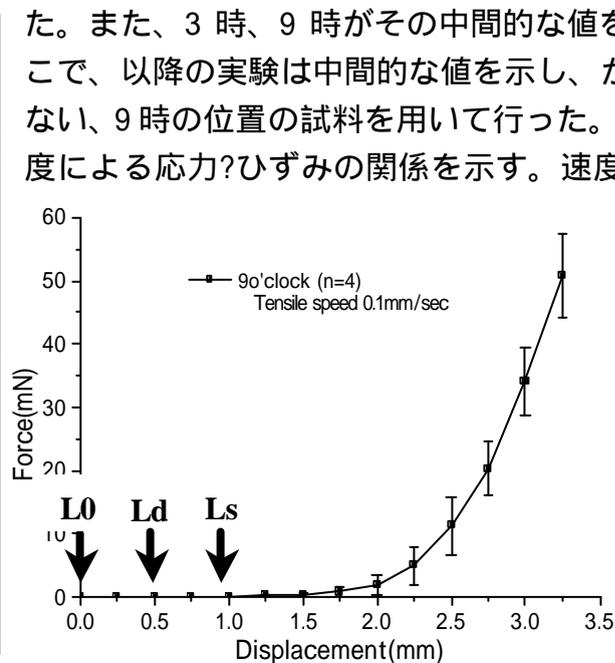


図8. ピンの移動量 - 力曲線 (脈絡膜)

が大きくなる傾向が見られた。しかし誤差が大きく、統計結果からもその有意性を明らかにすることはできなかった。

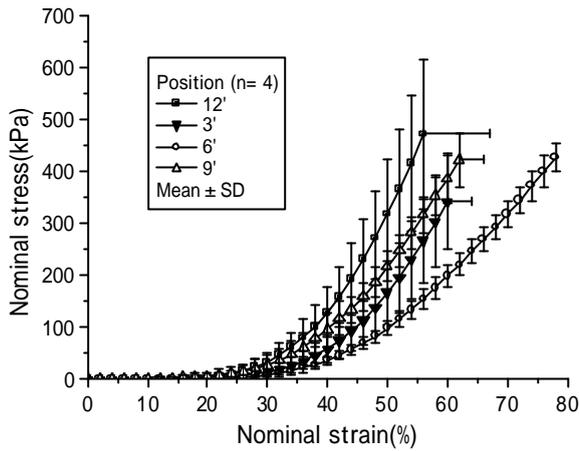


図9. 応力 - ひずみ曲線 (脈絡膜)
測定部位による違い

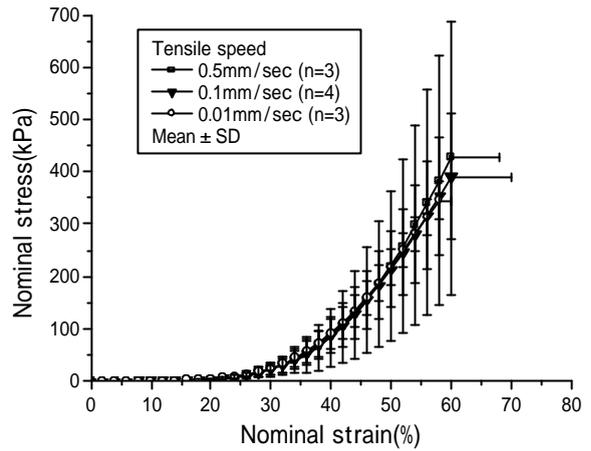


図10. 応力 - ひずみ曲線 (脈絡膜)
引張り速度による違い

3 - 3 - 2 . 水晶体前囊引張り試験結果

図 12 に水晶体前囊における、引張り速度と応力?ひずみの関係を示す。図 11 の(c) 形状を 2 本の棒状試験片と仮定し、脈絡膜と同様にして応力?ひずみの関係を求めた。これより引張り速度による差異は見られなかった。

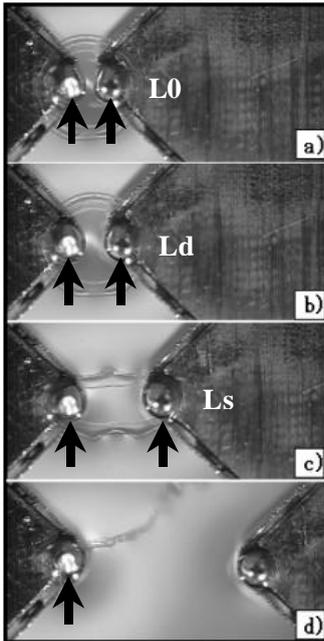


図11. 水晶体前囊引張り試験

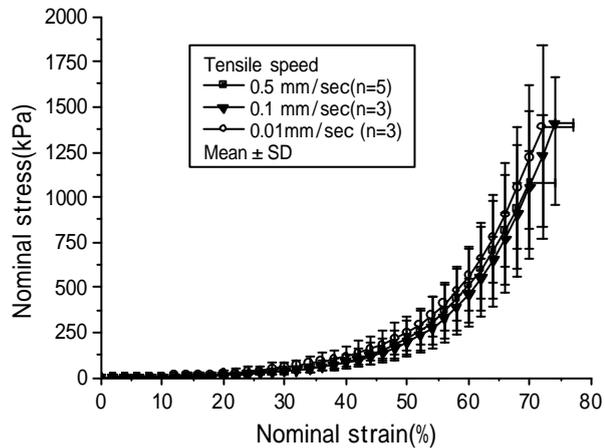


図12. 応力 - ひずみ曲線 (水晶体)
引張り速度による違い

3-3-3. 強膜引張り試験結果

図13の(c)形状を2本の棒状試験片と仮定し、脈絡膜と同様にして応力-ひずみの関係を求めた。図14に強膜における環境温度による応力-ひずみ関係を示す。室温に比べ、37℃環境下では応力が低下し、誤差も減少した。そこで、以降の実験を生体に近い37℃環境下にて行った。図15に強膜の測定部位による応力-ひずみの関係を示す。強膜において測定部位により応力-ひずみの関係に差異があることがわかった。3、12時の位置の組織が硬く、6、9時の位置は柔らかかった。これより、以降の実験

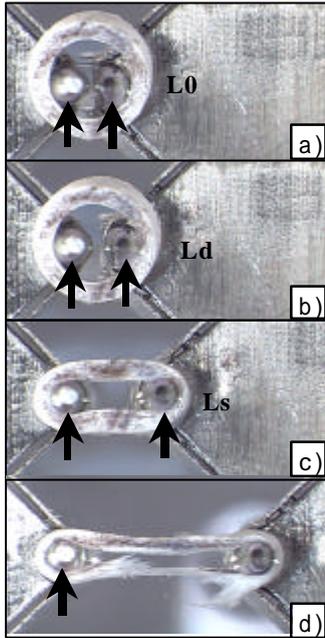


図13. 強膜引張り試験

は誤差の少なかった9時の位置のサンプルを用いて行った。強膜における速度依存性引張り試験の応力-ひずみの関係を図16に示す。引張り速度が速いほど応力が大きく、また誤差も増加した。強膜における異方性を考慮した引張り試験の応力-ひずみ関係を図17に示す。異方性試験は図18に示すようにメチルバイオレット(WAKO)飽和液により神経束から放射状に印を入れ、3方向において引張り試験を行った。引張りの方向で有意差が見られなかったことから、異方性は無いものと考えられる。また、強膜において組織切片を作製した。これより、組織繊維の錯綜が観察された(図19)。

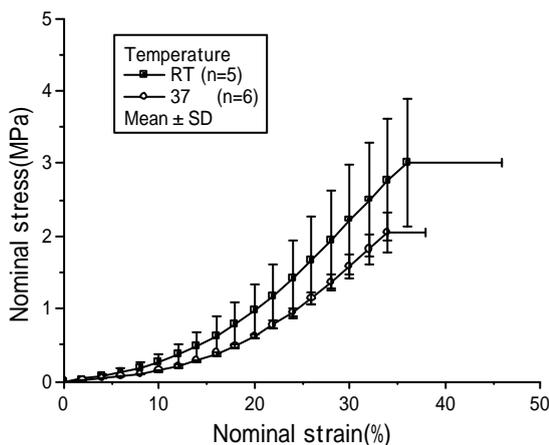


図14. 応力-ひずみ曲線(強膜)
環境温度による違い

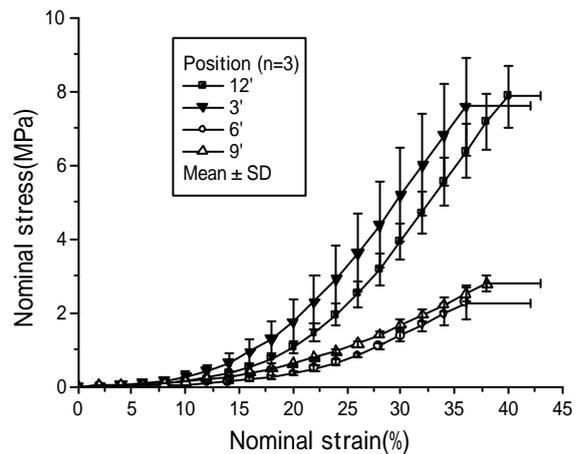


図15. 応力-ひずみ曲線(強膜)
測定部位による違い

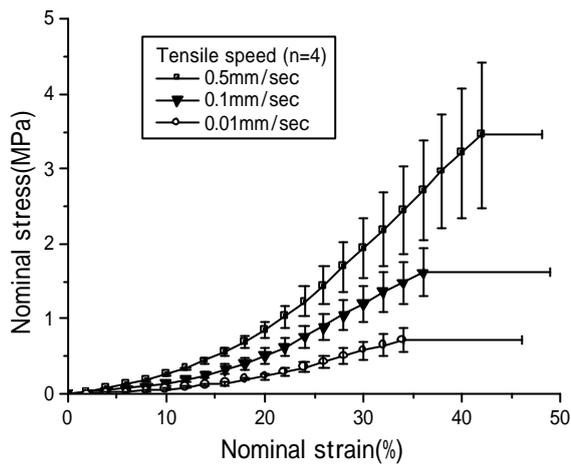


図16. 応力 - ひずみ曲線 (強膜)
引張り速度による違い

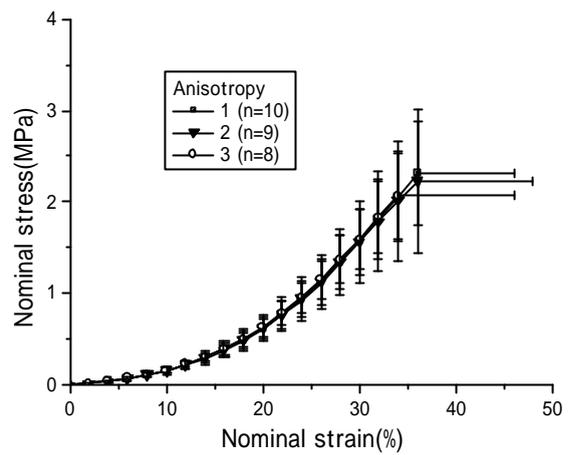


図17. 応力 - ひずみ曲線 (強膜)
異方性の有無

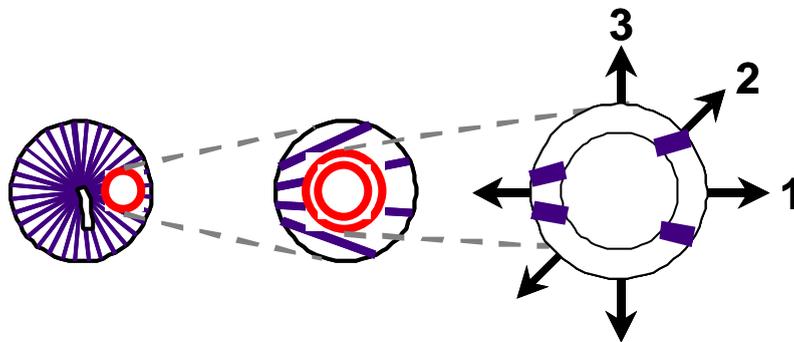


図18. 異方性マーキング (強膜)

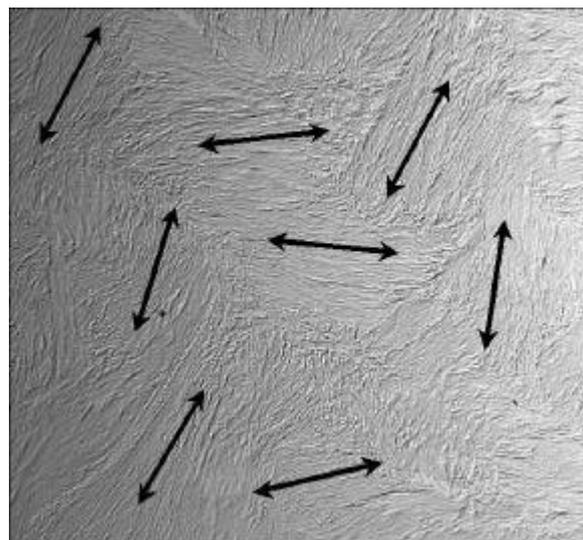


図19. 強膜組織切片観察

4. 考察

開発した打ち抜き装置により、豚眼球の脈絡膜、水晶体前囊、強膜組織において全長 3mm 以下の同心円状のリング状試験片を作成することができた。また、このリング状試験片を用いて、既報⁴⁾の引張り試験装置により、力学的データを測定することができた。これにより、豚眼球の力学的特性の取得が可能となり、以下について検討を行った。

- * 脈絡膜：眼球の位置による違い
引張り速度依存性
- * 水晶体前囊：引張り速度依存性
- * 強膜：環境温度依存性
眼球の位置による違い
引張り速度依存性
異方性の有無

測定結果より豚眼球の脈絡膜では、眼球の位置により力学的特性に違いがあることを確かめられた。一方、引張り速度依存性については、測定誤差が大きく、有意なデータを得ることはできなかった。これは、今回の実験で異方性を考慮して行わなかったために誤差が大きく影響していると考えられる。次に水晶体前囊では、引張り速度の依存性は見られなかった。ことから、水晶体前囊は延性に富んだ組織であると考えられる。強膜では、環境温度、眼球の位置および引張り速度により力学特性に違いがあることが明らかとなった。また、引張り試験および組織観察結果より、強膜組織は主成分であるコラーゲン繊維が複雑に絡み合った構造をなしており、異方性は無いと考えられた。

各組織の破断における公称ひずみ、公称応力（室温）は、脈絡膜;60%, 423kPa、水晶体前囊;72%, 1405kPa、強膜;36%, 3003kPa であり、組織ごとに力学特性が異なっていた。これより各組織は、その役割に応じて構成成分や含水率等が異なることが考えられた。各組織とも環境温度依存性が示唆されるため、生体環境温度に近い条件下での力学特性の取得が不可欠であると考えられる。また、眼球は層状構造であることから、接着している複合組織での引張り試験および組織間の剥離試験を行うことで、より生体に近い力学的特性が得られると考える。

5. まとめ

本実験より、脈絡膜、水晶体前囊、強膜組織において、詳細な力学的特性を測定することができた。同様にして網膜、角膜等の眼球の各組織における力学的特性を測定する予定である。眼球の力学的なメカニズムを明らかにすることは、網膜剥離手術で

ある輪状締結手術のシミュレーションだけでなく、緑内障や白内障など多くの眼球疾患の解明につながると考える。また、眼球の外傷シミュレーションなどその有用性が期待される。

本研究で提案した力学的特性の測定方法は、生体軟組織を対象とした引張り試験において有効であり、他の臓器や組織についても解析が可能と考える。また、生体組織の力学的特性と画像情報の取得から、生体（人体）デジタルモデルをコンピュータ上に構築することが可能となる。これが実現すると、三次元構造をとらえた生体内組織の観察および力学的変化の予測が可能となる。医療にこのモデルを応用することができれば、疾病の診断や外科的手術の安定化につながるなど、その有用性は大いに期待される。

参考文献

1. R.Snell: “ 眼球の臨床解剖学 ” 医学書院
2. E.Uchio et al.: “ Simulation model of an eyeball based on finite element analysis on a supercomputer ” , Br F Ophthalmol, vol.83, pp. 1106-1111 (1999)
3. J.Stitzel et al.: “ Computational modeling and experimental validation of human eye interaction with high-speed foam particle ” , Duma, (2000)
4. 横田ほか: “ 軟組織の力学特性計測システムの開発 ” , 第 13 回バ イオンズ コリング 講演会講演論文集, pp. 46-47 (2001)
5. 須長ほか: “ 眼球の詳細な力学的特性の測定 ” , 第 15 回バ イオンズ コリング 講演会講演論文集, pp. 185-186 (2003)
6. 須長ほか: “ 眼球の詳細な力学的特性の測定 - 第 2 報 強膜、水晶体嚢の測定 - ” , 第 16 回バ イオンズ コリング 講演会講演論文集, pp. 275-276 (2004)