

血管壁の実験バイオメカニクス：マクロからミクロへ

松本 健郎

要 旨：血管バイオメカニクスの最近の研究動向を解説する。まず血管力学特性計測の最近の例を紹介し、胸大動脈が厚み方向にも周方向にも不均質であることを示す。次に本分野の中心課題の一つである力学的適応について概説し、その詳細の理解には壁内の微視的力学環境を知る必要があることを示す。そして、われわれが進めている微視的力学環境の計測法を紹介するとともに、その過程で明らかになったこととして、弾性動脈組織標本における弾性板の蛇行が弾性板と平滑筋組織の力学特性の差に起因することを指摘する。(J Jpn Coll Angiol, 2006, 46: 749-757)

Key words: artery, biomechanics, mechanical properties, residual stress, microscopic analysis

はじめに

バイオメカニクスとは、力学的視点から生体内の種々の現象を解析して生体の仕組みを明らかにするとともに、得られた成果を医学や工学に応用することを旨とした学問・研究領域である¹⁻³⁾。

血管、なかでも動脈は、その力学特性が循環系に大きな影響を与えることもあり、バイオメカニクスの研究が多く行われてきた器官の一つである¹⁾。従来、さまざまな部位や病態における力学特性がさまざまな方法で調べられてきた。一方、血管は血流や血圧の変化に応じて能動的に自らの形態や力学特性を変化させる力学的適応現象を示すため^{3,4)}、そのメカニズムを探る研究も少なからず行われてきた。そして円周方向応力(血管の周方向に働く張力を作用する断面積で除した値)や壁せん断応力(血流の粘性により血管壁内面をこする方向に働く応力)が血管の形態と力学特性の維持に密接に関連していることが明らかとなってきた。しかし、血管壁の能動的変化は壁内の細胞により惹起されると考えられるので、力学的適応メカニズムを詳細に明らかにするためには、壁内の細胞レベルの力学環境を明らかにすることが必要である。近年、このような認識に立つ研究も多く行われるようになってきている。

本稿では、実験系の血管バイオメカニクスの基本で

ある血管壁の力学特性の計測方法について概説した後、力学的適応について触れ、最後に血管のミクロレベルの力学環境を明らかにすべく取り組んでいるわれわれの試みを紹介する。

いろいろな血管力学特性計測法と計測例

(1) 従来の試験法^{1,3,4)}

血管の実験的な力学特性計測には、主に引張試験と内圧負荷試験が用いられてきた。

引張試験は材料の力学特性を計測で広く用いられている方法である。細長い試料を引っ張り、張力と伸びの関係から力学特性を求めるものである。比較的簡単に試験ができ、試料の破断荷重も求められるといった利点を有するが、加えられる変形が非生理的であるうえに引張方向の特性しか分からない、生理状態の形状との関係がつけ難いなどの難点がある。

血管の生理的形狀を保って試験するには内圧負荷試験が用いられる。摘出試料を生理状態の血管の軸方向長さに伸ばし、これに内圧を負荷して内圧と血管径の関係を記録する。軸方向長さをいろいろな長さに保って実験し、さらに内圧と血管径のみならず血管軸方向に生じる力も計測することで、血管壁の3次元的な応力ひずみ関係を求めることもできる。

大動脈弓部や動脈瘤など形状が円筒状ではない組織

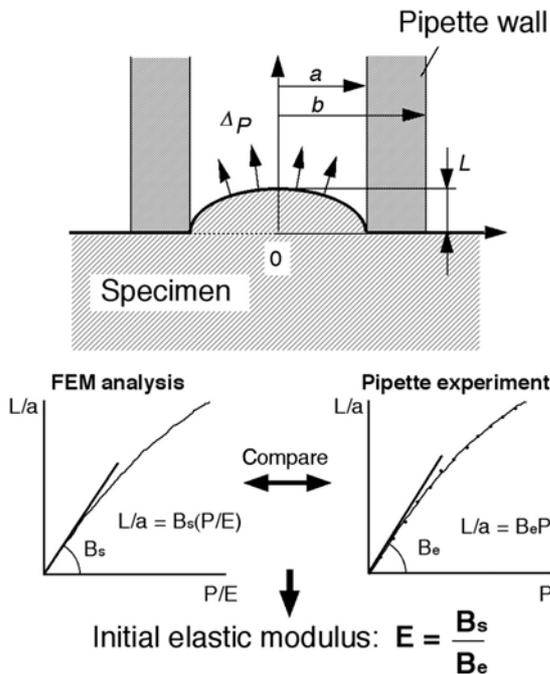


Figure 1 Pipette aspiration method.

の場合には、正方形に試料を切り出し、その直交する2方向の引張特性を同時に計測する2軸引張試験も用いられている。この方法は生理的変形状態に近い試験ができ、さまざまな変形条件を自由に与えられる点で優れているものの、試料の把持方法が難しい、精密な実験を進めるには2軸の引張をフィードバック制御する必要があるなどの困難さからあまり多くは行われていない。

(2) ピペット吸引法⁵⁾

前節で述べた方法では試料全体に力を加えて変形させるため、血管壁全体の力学特性しか分からない。一方、動脈硬化血管の断面をみれば分かるように、1mm離れただけでも組織像は互いに異なり、したがって力学特性も異なることが予想される。よって組織局所の力学特性を計測する必要がある。そこで用いられるのがピペット吸引法である。本法は試料表面をガラスピペットで吸引し、この際の吸引圧と試料の変形量の関係を同様にして行った計算機シミュレーションの結果と比較して試料の弾性率を求める方法である (Fig. 1)。弾性率が計測される範囲は、ピペット直下の深さがピペット内直径程度の範囲であるため、ピペット先端局

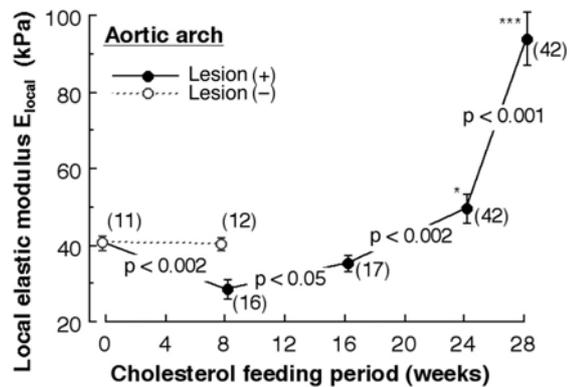


Figure 2 Change in the local elastic modulus of the aortic arch with cholesterol feeding period.

Figures in the parentheses indicate the number of aspirated points.

Lesion (+): area covered with the lesions, Lesion (-): area preserved from the lesions

Based on reference 6.

所の力学特性を選択的に計測することができる。

Fig. 2は高コレステロール食投与により発症したウサギ胸大動脈の動脈硬化病変の力学特性の推移である⁶⁾。切り開いた血管壁内面に点在する病変部にピペットをあてて計測した。投与後8週の時点で病変部の弾性率がいったん低下した後、上昇に転じることが分かる。組織標本の画像解析の結果、病変初期の軟化は内部に脂肪を多量に蓄えているためきわめて柔らかいと考えられる泡沫細胞の出現によること、その後の硬化は病変部表層への平滑筋細胞の出現とその後の壁の石灰化によって生じることが明らかとなった。一方、内圧外径関係からは初期の弾性率の低下は得られず、全体の特性を計測しているだけでは病変部で進行するダイナミックな変化を捉えられないことも分かった。

壁の断面をピペットで吸引することにより、壁内の厚み方向の弾性率分布を知ることできる。Fig. 3は肉眼的に正常と判定された22歳ならびに50歳の男性の胸大動脈断面の弾性率を内壁近傍、壁中央部、外壁近傍の3カ所に分けて計測したものである。血管は厚み方向に均質ではなく、内壁側ほど硬い可能性が示唆された。また、この傾向は加齢とともに増強される可能性も考えられた。

(3) 軸方向観察による内圧負荷試験⁷⁾

血管壁の不均質性は厚み方向だけとは限らない。同

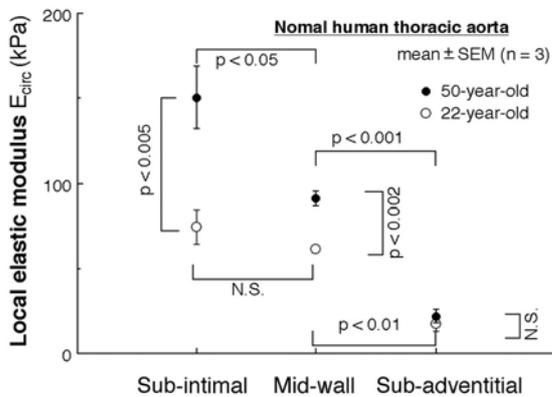


Figure 3 Elastic modulus of normal human aorta in sub-intimal, mid-wall, and sub-adventitial regions. Marked heterogeneity was observed. Unpublished data; courtesy of Profs. Masuda H, Sato M, and Dr. Ohashi T.

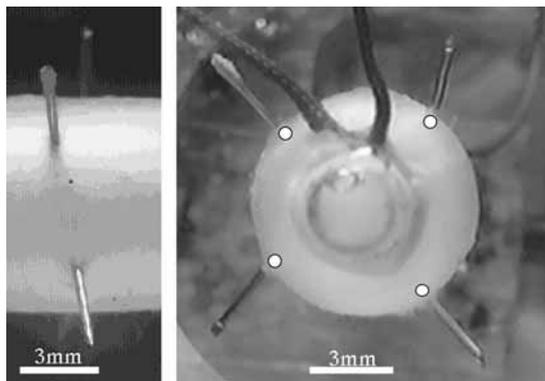


Figure 4 Example of images of a rabbit thoracic aorta at 80 mmHg. A: Side view B: Longitudinal view Based on reference 7.

一円周上であっても、場所によって力学特性に違いがある可能性がある。これを確かめるため、われわれは血管の変形を軸方向から観察する方法を用いている。すなわち、血管壁に垂直にマーカー針を等間隔で4本刺入し (Fig. 4)、加圧に伴う針の変形を計測することで各部分の変形の様子を比較するものである。本法でウサギ胸大動脈の変形を計測したところ、腹側が背側に比べて伸びやすいことが明らかとなった (Fig. 5)。また、平滑筋収縮能も腹側のほうが背側より高いことが明らかとなっている。大動脈壁の伸展性が周方向位置により異なる可能性はシネMRIを用いたヒト胸大動脈

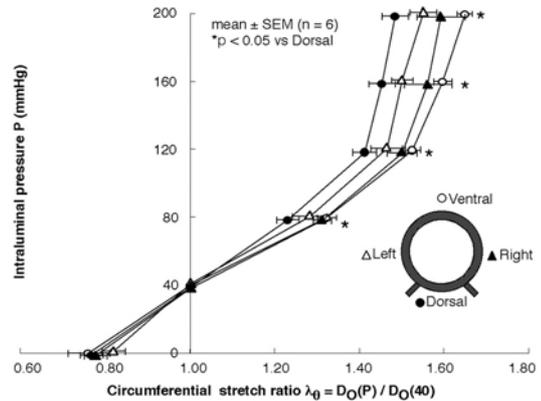


Figure 5 Variation of the pressure circumferential stretch ratio curve of rabbit aortas depending on their circumferential position. Based on reference 7.

の変形解析においても報告されている⁸⁾。胸大動脈は、腹側が胸腔内に露出しているのに対し、背側は脊椎に密着しており、力学環境が明らかに異なる。このため、力学特性が異なる可能性が考えられる。

血管の力学的適応・力学的ホメオスタシス

血管も他の生体組織と同様、自らに加わる力学刺激に応じて能動的に自らを作り変えている。血管は直線部であればほぼ円筒管と見なすことができるうえに、作用する力は血圧、血圧による円周方向張力、血流による壁せん断力、そして血管を軸方向に引っ張る tethering force からほぼ正確に見積もることができる。このため、壁内部の力学環境を精度よく詳細に推定することが可能であるため、力学的適応の定量的なモデルとしてよく研究されてきた。この結果、これまでに2つの適応メカニズムが存在することが明らかとなってきた。すなわち、血流量変化に対する適応と血圧変化に対する適応である。

血流増加により血管が拡張することは古くから知られていたが、それが血流による壁面せん断応力を一定に保つ応答であることは1980年に Kamiya と Togawa⁹⁾ が指摘、その後、Masuda ら¹⁰⁾ がこの応答に内皮細胞が必須であることを明らかにした。

高血圧による動脈壁の肥厚は血圧によって生じる円周方向応力が一定になるように生じていることが1970年代初頭に Wolinsky¹¹⁾ によって指摘された。

このように血管壁には応力あるいはひずみといった

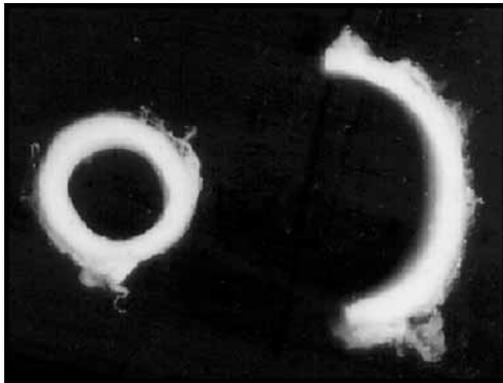


Figure 6 Ring-like segment of canine thoracic aorta (left) and its adjacent segment cut radially. Upon cutting, it sprung opened to form an arc, indicating residual stress in the aortic wall.

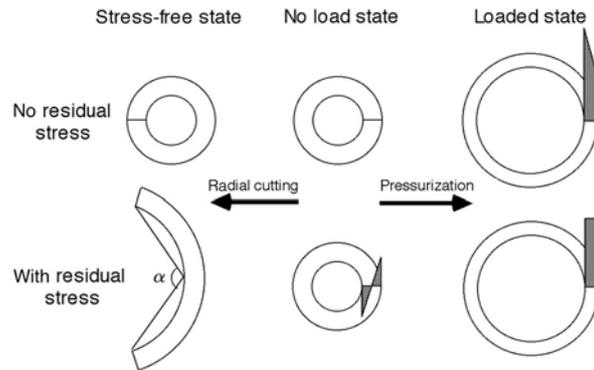


Figure 7 Effect of residual stress on stress distribution in the loaded state.

A
B

力学的パラメータを一定に保とうとする働きがある。すなわち、力学的パラメータについてもホメオスタシスが成り立っているといえる。

血管壁内残留応力

前節で述べたような円周方向応力に対する力学的ホメオスタシスが、血圧が変化した場合だけでなく壁内のいずれの場所においても成り立っているとすると無負荷状態の血管壁には残留応力が存在することになる^{2,12)}。

残留応力とは物体に作用する外力がゼロであるにもかかわらず物体内部に残留する応力のことであり、血管壁は生体組織のなかでも最も早く残留応力の存在が注目された組織である。すなわち、体外に摘出された胸大動脈を輪切りにして輪の一端を切り開くと輪が開いて円弧状になることが多い(Fig. 6)。これは切断によって血管試料が内壁面で円周方向に伸び、外壁面で縮んだことを示し、切断前のリング状血管試料の内壁側に圧縮、外側に引張の応力が残留していたことを意味する。

このような残留応力は血管が加圧された際に内壁側に生じる高い応力(応力集中)を緩和する働きがある(Fig. 7)。もし血管が摘出された状態で残留応力が存在しないと(Fig. 7A)と、加圧によって内壁面側の方が外壁面側に比べて余計に伸ばされるために内壁面側に応力集中が生じることになる。残留応力によって、あらかじめこのような応力集中が生じないように適当なバイアスをかけると、生理状態の円周方向応力を内壁側と外壁側で等しくすることが可能なのである(Fig.

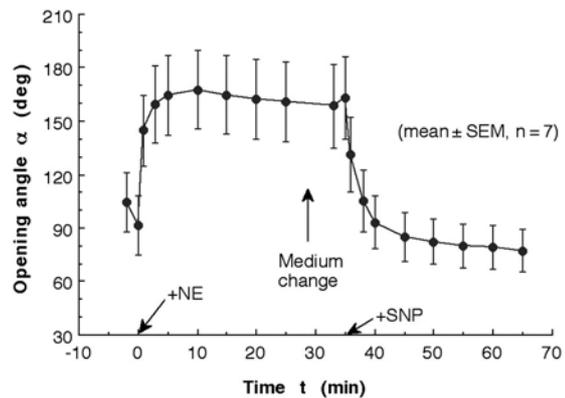


Figure 8 Effect of smooth muscle contraction (+NE, norepinephrine) and relaxation (+SNP, sodium nitroprusside) on the opening angle α . Based on reference 13.

7B)。このようにすべての場所で均等に力を負担する構造物は材料に無駄がなく、信頼性の面から望ましいといえる。血管壁は機械工学的にも洗練された構造物であることが明らかとなってきた。

ところで中膜に存在する平滑筋の収縮・弛緩がこの残留応力に影響を与えることが指摘されている¹³⁾。Fig. 8はラット胸大動脈の開き角(円弧状に開いた血管試料の両端と円弧の中心とを結んで得られる角度 α , Fig. 7参照)がノルエピネフリンによる平滑筋収縮とニトロプルシドナトリウムによる弛緩でどう変化するか示したものである。このFig. 8から分かるように平滑筋収縮・弛

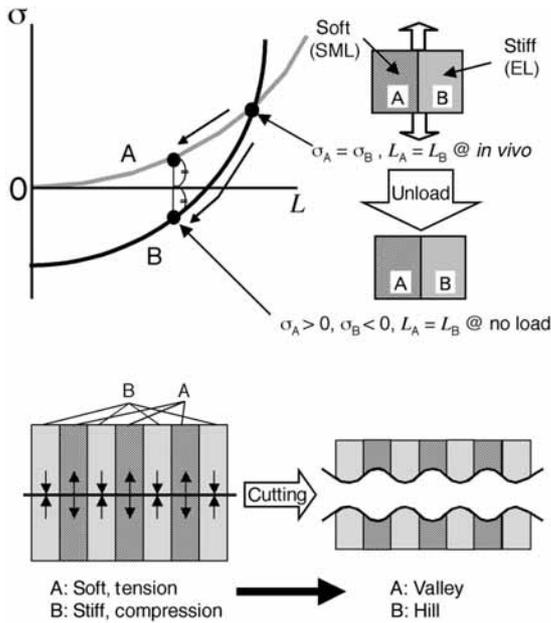


Figure 9 Schematic diagrams on residual stress caused by material heterogeneity (A) and hill and valley pattern caused by such residual stress (B).

緩によって開き角(残留応力)はそれぞれ増加・減少する。すなわち平滑筋の収縮・弛緩によって血管壁内の応力分布が制御されている可能性が指摘されている。

細胞レベルの解析に向けて

これまで述べてきた血管壁内応力・ひずみ分布の解析は血管壁を均質と仮定して行われたものであった。しかし細胞レベルで観察すると血管壁は均質ではない。例えば胸大動脈などの弾性動脈の中膜はエラスチン主体の弾性板(EL: elastic lamina)とそれに挟まれた平滑筋主体の層(ここでは便宜上SML: smooth muscle layerと称する)からなるlamellar unitが積み重なった構造をしている¹⁴⁾。エラスチンの弾性率は600kPa程度と報告されており¹⁾、平滑筋細胞のそれは10kPa程度である¹⁵⁾。また、コラーゲンの弾性率は1GPa程度といわれており¹⁾、血管壁は弾性率が5桁も異なる種々の材料からできていることになる。したがって細胞レベルでは血管壁は決して均質ではあり得ない。実際、われわれは大動脈壁を厚み方向にさまざまな程度まで圧縮した状態でホルマリン固定して組織標本作製し、圧縮に伴う標本のELとSMLの厚さの変化を調べた結果、ELの弾性率の

ほうがSMLより少なくとも2.5倍程度高いことを明らかにしている¹⁶⁾。

(1) 微視的残留応力の計測・評価¹⁶⁻¹⁸⁾

このように互いに弾性率の大きく異なる物質からなる物体には弾性率の違いに起因する残留応力が存在する可能性が高い。これを説明するための単純化したモデルをFig. 9Aに示す。簡単にするため、血管壁を厚さの等しい硬軟2層からなると仮定する。壁の一部を考え、円周方向の引張がこの試料では長軸方向の引張に相当するとする。ここで微視的レベルでも力学的ホメオスタシスが成り立っていると仮定して、両層の応力が生理状態で等しいとする。この状態で減圧、すなわち張力を除荷していくと両層の引張方向の長さ L は等しいままだが、応力ひずみ関係の違いから、加わる応力 σ には変化が現れ始める。そして、完全に除荷された状態では、Fig. 9Aに示すように硬い層は圧縮の残留応力が加わった状態になるのに対し、柔らかい層には引張応力が残留したままとなる。こうして微視的力学特性の違いによる残留応力が発生するわけである。

このような残留応力を有する物体を切断すると切断面の近傍では残留応力が開放されるために、断面には残留応力に対応した凹凸が現れるはずである(Fig. 9B)。このことを確かめるために走査型マイクロ押込試験機(Scanning Micro Indentation Tester: SMIT)を開発した¹⁷⁾。本装置は試料表面を μm オーダーの分解能で走査しつつ、各点でカンチレバー先端の圧子を試料表面に押し付けることにより押込試験を行って表面のステイフネス分布を求めるとともに、カンチレバーが撓んだ時点の高さを求めることで、表面形状も正確に知ることができる装置である。こうして計測したブタ胸大動脈壁断面にはlamellar unitに対応した凹凸がみられ、組織観察と照合した結果、凸部はELであり硬く、凹部はSMLで柔らかいことが分かった(Fig. 10)。これは定性的にはFig. 9に示した結果と同じであり、生理状態でELとSMLが等しく力を負担している可能性を示す興味深い結果である。

この結果はまた、組織のミクロな不均質性によって生じる残留応力が確かに生体組織中に存在することを証明したものである。実際、実験より得られた表面の凹凸ならびに両層の力学特性を基に組織内の残留応力を推定したところ、ELで -35kPa 、SMLで 10kPa と従来

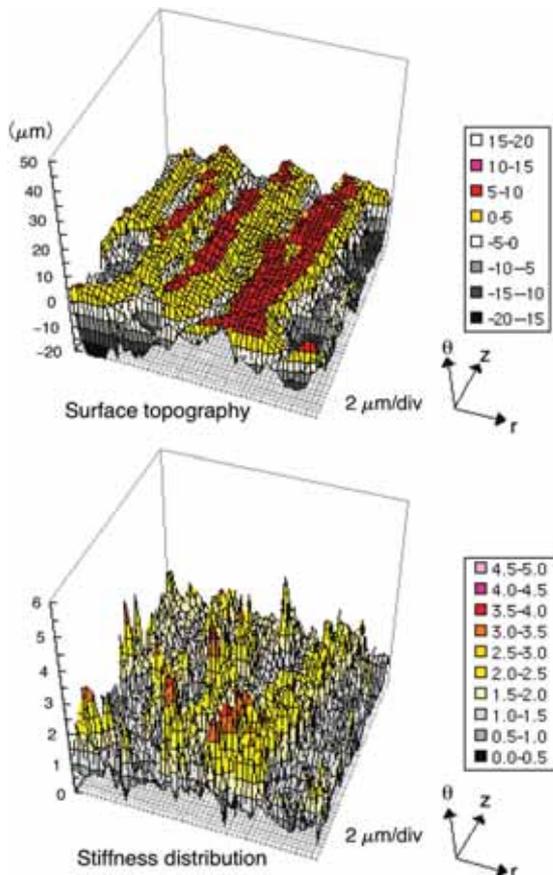


Figure 10 A set of data obtained with the SMIT for a section perpendicular to the circumferential direction of a porcine thoracic aorta. Based on reference 17.

血管壁で存在が予想されていた残留応力よりもさらに大きな値であった¹⁸⁾。このことは、組織内に存在する細胞に加わる力が組織に加わる力と必ずしも等しくないことを意味している。すなわち、力学的適応は組織内の細胞の力学環境に対する能動的応答によって生じるために、そのメカニズムの解明には組織内の細胞に加わる力を知ることが必須である。しかし、従来の解析は血管壁を均質と仮定して行われてきたものであるため、それが実際に細胞に加わる力をどの程度反映しているのか、今後、再度の吟味が必要となってきた。

(2) 弾性板の蛇行と微視的残留応力

無負荷状態の血管壁の弾性板に圧縮応力が作用しているということは、従来、血管の組織像で見過ごされ

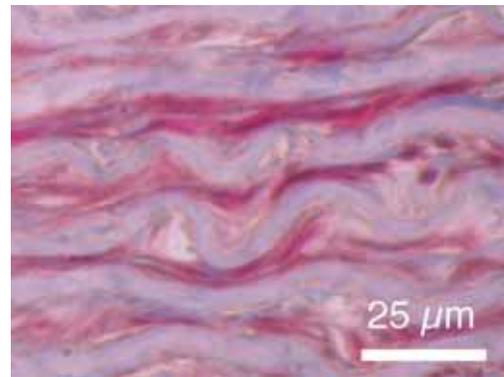


Figure 11 A section of the porcine thoracic aorta stained with Azan. Corrugated elastic laminae are observed as white wavy lines. Based on reference 16.

てきた点を明らかにするかもしれない。すなわち、無負荷状態で固定された弾性動脈では弾性板が蛇行していることが多く観察される (Fig. 11)。これがなぜ蛇行しているのか、今まで説明はなされていないと思われるが、弾性板に圧縮力が加わることによる座屈だと考えると力学的に説明することができる。座屈とは材料が圧縮される際に、圧縮方向に縮むだけではエネルギーを吸収することができず、圧縮方向と直交する方向に変形を生じることをいうが、弾性板が圧縮に耐えられず蛇行したと考えると説明が付く。実際、弾性板の弾性率や蛇行形状から推察した座屈荷重は10kPa程度とELの圧縮の残留応力と良い一致を示している¹⁶⁾。

(3) 微細組織の力学特性計測

生理状態の血管壁における細胞レベルの力学環境を明らかにするためには、残留応力を知るだけでは不十分である。弾性板や平滑筋細胞など、組織を構成する要素それぞれについて、生理状態を含む大変形領域までの力学特性を知る必要がある。このため微細組織用引張試験機が開発されている^{15, 19, 20)}。本装置は顕微鏡下で細胞などの微細組織をdeflection, operationの2本のマイクロピペットで把持し引っ張ることでその力学特性を得る装置である (Fig. 12)。組織に加わる力はあらかじめキャリブレーションしておいたdeflection pipetteの撓みから求められる。本装置を用いてラット胸大動脈壁から酵素法により単離した平滑筋細胞の引張特性

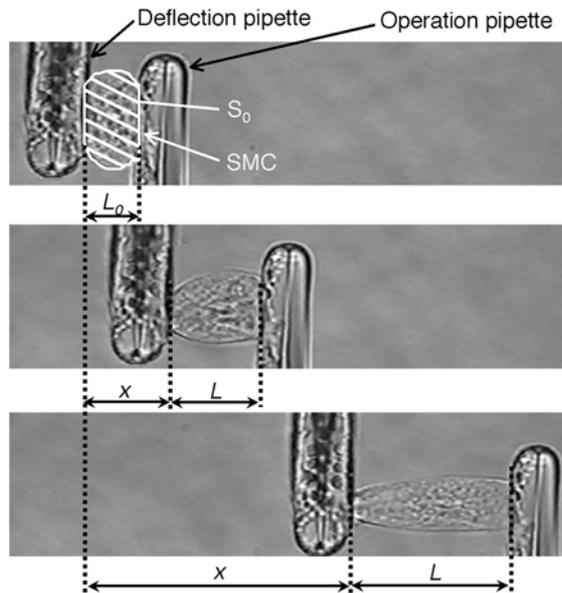


Figure 12 A smooth muscle cell during the tensile test.
 L : cell length, x : displacement of deflection pipette
 Based on reference 15.

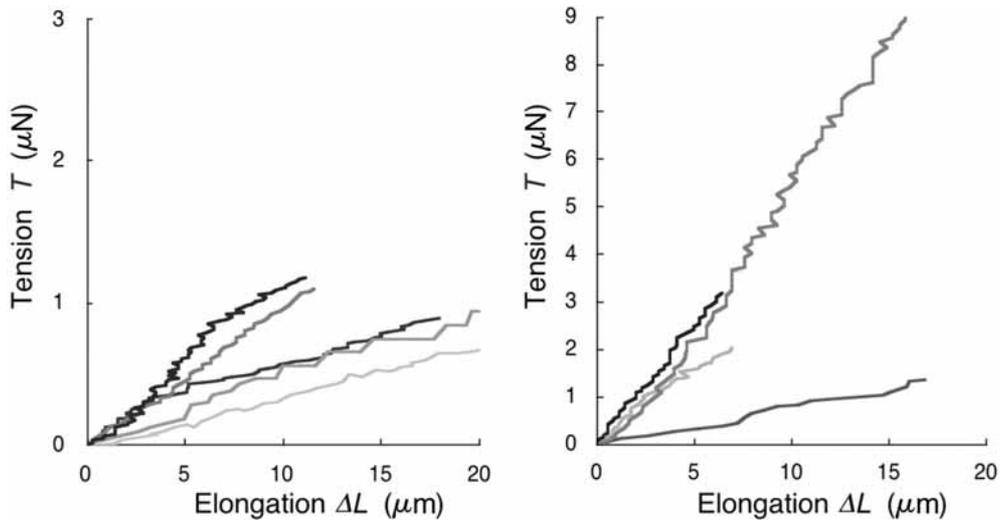


Figure 13 Tension-elongation curves of vascular smooth muscle cells freshly isolated from rat thoracic aortas.
 Contraction was induced with 10^{-5} M serotonin.
 A: Untreated cells.
 B: Contracted cells.
 Based on reference 20.

A | B

を計測した (Fig. 13)。細胞の張力 - 伸び関係がかなり線形であること、収縮によってステイフネスが4倍程度増加することなどが分かる。現在は細胞以外の微細組織を切り出す手段の確立を進めつつある。

おわりに

血管壁のバイオメカニクスの実験的側面について最近のトピックを紹介してきた。このほか、最近注目の

集まっている分野としては、力学刺激による再生血管組織の特性改善²¹や各種動脈瘤の成因の力学解析とそれを基にした動脈瘤破裂可能性予測^{4, 22, 23}などが挙げられるだろう。紙幅の関係から触れることができなかった血管バイオメカニクスの基礎^{1, 3, 4}や各種血管の力学特性²⁴、理論解析⁴の側面については、それぞれの成書を参照されたい。

謝 辞

未発表データの使用を許可頂いた秋田大学・増田弘毅教授、東北大学・佐藤正明教授、同・大橋俊朗助教授に感謝します。

文 献

- 1) Fung YC: Biomechanics: Mechanical Properties of Living Tissues. Springer-Verlag, New York, 1981.
- 2) Fung YC: Biodynamics: circulation. Springer-Verlag, New York, 1984.
- 3) 日本機械学会：生体機械工学．日本機械学会，東京，1997．
- 4) Humphrey JD: Cardiovascular Solid Mechanics, Springer-Verlag, New York, 2002.
- 5) Aoki T, Ohashi T, Matsumoto T et al: The pipette aspiration applied to the local stiffness measurement of soft tissues. *Ann Biomed Eng*, 1997, **25**: 581–587.
- 6) Matsumoto T, Abe H, Ohashi T et al: Local elastic modulus of atherosclerotic lesions of rabbit thoracic aortas measured by pipette aspiration method. *Physiol Meas*, 2002, **23**: 635–648.
- 7) 杉田修啓，松本健郎，佐藤正明：軸方向からの観察による血管壁内ひずみの周方向領域別計測．日本機械学会論文集A編，2003，**69**：43–48．
- 8) Draney MT, Arko FR, Alley MT et al: Quantification of vessel wall motion and cyclic strain using cine phase contrast MRI: *in vivo* validation in the porcine aorta. *Magn Reson Med*, 2004, **52**: 286–295.
- 9) Kamiya A, Togawa T: Adaptive regulation of wall shear stress to flow change in the canine carotid artery. *Am J Physiol*, 1980, **239**: H14–H21.
- 10) Masuda H, Kawamura K, Sugiyama T et al: Effects of endothelial denudation in flow-induced arterial dilatation. *Front Med Biol Eng*, 1993, **5**: 57–62.
- 11) Wolinsky H: Effects of hypertension and its reversal on the thoracic aorta of male and female rats. Morphological and chemical studies. *Circ Res*, 1971, **28**: 622–637.
- 12) Vaishnav RN, Vossoughi J: Estimation of residual strains in aortic segments. In: Hall CW, ed. *Biomedical Engineering II: Recent Developments*. Pergamon Press, New York, 1983, 330–333.
- 13) Matsumoto T, Tsuchida M, Sato M: Change in intramural strain distribution in rat aorta due to smooth muscle contraction and relaxation. *Am J Physiol*, 1996, **271**: H1711–H1716.
- 14) Wolinsky H, Glagov S: A lamellar unit of aortic medial structure and function in mammals. *Circ Res*, 1967, **20**: 99–111.
- 15) Nagayama K, Nagano Y, Sato M et al: Effect of actin filament distribution on tensile properties of smooth muscle cells obtained from rat thoracic aortas. *J Biomech*, 2006, **39**: 293–301.
- 16) Matsumoto T, Goto T, Sato M: Microscopic residual stress caused by the mechanical heterogeneity in the lamellar unit of the porcine thoracic aortic wall. *JSME Int J Ser A*, 2004, **47**: 341–348.
- 17) Matsumoto T, Goto T, Furukawa T et al: Residual stress and strain in the lamellar unit of the porcine aorta: experiment and analysis. *J Biomech*, 2004, **37**: 807–815.
- 18) Matsumoto T, Furukawa T, Nagayama K: Microscopic analysis of residual stress and strain in the aortic media considering anisotropy of smooth muscle layer. In: Holzapfel GA, Ogden RW, eds. *Mechanics of Biological Tissue*. Springer-Verlag, New York, 2006, 257–268.
- 19) Matsumoto T, Sato J, Yamamoto M et al: Smooth muscle cells freshly isolated from rat thoracic aortas are much stiffer than cultured bovine cells: possible effect of phenotype. *JSME Int J Ser C*, 2000, **43**: 867–874.
- 20) Nagayama K, Matsumoto T: Mechanical anisotropy of rat aortic smooth muscle cells decreases with their contraction: possible effect of actin filament orientation. *JSME Int J Ser C*, 2004, **47**: 985–991.
- 21) Isenberg BC, Williams C, Tranquillo RT: Small-diameter artificial arteries engineered *in vitro*. *Circ Res*, 2006, **98**: 25–35.
- 22) Vorp DA, Vande Geest JP: Biomechanical determinants of abdominal aortic aneurysm rupture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25**: 1558–1566.
- 23) 加藤陽子，松本健郎，熊谷紀一郎他：MRI画像に基づいた簡便な胸部大動脈拘束条件推定方法及胸部大動脈瘤への応用．*脈管学*，2002，**42**：247–253．
- 24) Abe H, Hayashi K, Sato M, eds: *Data Book on Mechanical Properties of Living Cells, Tissues, and Organs*, Springer-Verlag, Tokyo, 1996.

Biomechanics of Blood Vessel Walls: From Macroscopic to Microscopic Viewpoint

Takeo Matsumoto

Biomechanics Laboratory, Department of Mechanical Engineering, Nagoya Institute of Technology, Aichi, Japan

Key words: artery, biomechanics, mechanical properties, residual stress, microscopic analysis

Current trends in blood vessel wall biomechanics are addressed from the following 3 viewpoints: 1) Recent methods for the measurement of mechanical properties of blood vessel walls, 2) Mechanical adaptation and 3) The importance of studying microscopic mechanical environment. Special reference is made to heterogeneity in the mechanical properties of artery walls. Moreover, mechanical adaptation is considered to be one of the most important topics in blood vessel mechanics. The microscopic mechanical environment in blood vessel walls is complex due to histological heterogeneity at a microscopic level. This may cause corrugation of the elastic lamina, which is frequently observed in histological sections of elastic arteries. (J Jpn Coll Angiol, 2006, **46**: 749–757)