

ラット大腿骨とその脱灰骨の力学的性質に及ぼす温度の影響

Effects of Temperature on the Mechanical Properties of
Rat Femur and Demineralized Femur

○正 山本憲隆 (立命館大)

山下陽子 (立命館大院)

Noritaka YAMAMOTO, Ritsumeikan University, 1-1-1 Noji-higashi, Kusatsu, Shiga 525-8577

Yoko YAMASHITA, Ritsumeikan University

Key Words: Mechanical Properties, Temperature, Femur, demineralization, Collagen, Rat

1. 緒 言

運動時に体温は 38~40℃まで上昇するが、腱や靱帯では温度上昇はさらに大きくなることが知られている。我々の実験でも、ラットに繰り返しジャンプ運動をさせると、膝蓋腱の温度が平均で 40.8℃、最高 42.3℃まで上昇することが明らかになっている¹⁾。また、Bergmann ら²⁾は、患者の体内に埋め込んだ人工股関節の温度が、1時間の歩行で、摩擦熱により約 43℃まで上昇すると報告している。

腱や骨から抽出したコラーゲンは約 40℃で変性してゼラチンに分解される³⁾。腱では乾燥重量の約 90%がコラーゲンからできている。また、骨でも乾燥重量の約 30%がコラーゲンからできおり、骨の力学的強度に大きく関与している。これらのことから、体内で温度が上昇すると、腱や骨のコラーゲンが分解されて力学的性質が変化すると考えられる。そこで、我々は、ラットの膝蓋腱と大腿骨を種々の温度に保った生理食塩水中に一定期間浸漬した後、引張試験を行ない、42℃の生理食塩水中に浸漬すると引張強度が低下することを明らかにした^{4,5)}。

本研究では、大腿骨の引張試験に加えて、脱灰処理して成分をコラーゲンのみにした脱灰骨についても引張試験を行ない、骨の力学的性質に及ぼす温度の影響をより詳細に調べた。さらに、大腿骨の圧縮試験を行ない、引張試験の結果と比較・検討した。

2. 実 験

実験には 9 週齢の雄のラット (262±2g) を用いた。ラットを屠殺後、大腿骨近位部から脛骨遠位部までを周囲組織ごと切断し、その後すぐに生理食塩水で十分湿らせたガーゼで包み、ラップフィルムで密封し、-40℃の冷凍庫内に保存した。これを常温で解凍し、骨膜を含む周囲組織を除去した。

2.1 大腿骨の引張試験

フライス盤を用いて大腿骨骨幹部より Fig. 1 のような試験片を作成した。切削は骨の温度上昇と乾燥を防ぐため、水を滴下しながら行った。試験片は 5 本づつ 7 群に分け、6 群を生理食塩水を満たした試験管に入れ、32, 37, 42℃でそれぞれ 2, 4 週間浸漬した。試験管と生理食塩水には

滅菌したものをを用い、生理食塩水は 2, 3 日毎に交換した。試験片の幅と厚さは浸漬前後にマイクロメータで測定したが、有意な変化は見られなかった。残りの 1 群は、比較対照のため浸漬せずに、引張試験を行った。試験は 37℃の生理食塩水で行った。試験片をレジンでアルミニウム製のパイプに固定し、これを万能試験機 (オートグラフ AGS-G, 島津製作所) に取り付けて、0.5mm/min の引張速度で破断するまで引張った。マーカを付けた試験片を CCD カメラで撮影し、得られた画像を VDA を用いて二値化処理してマーカ間距離の変化を計測し、ひずみを求めた。

2.2 脱灰骨の引張試験

2.1 と同様に試験片を作成した。試験片平行部以外の部分の脱灰を防ぐために、平行部以外をレジンでコーティングした。7 群を 4℃の 0.5M EDTA 溶液に 5 日間浸漬して脱灰した。溶液は毎日交換した。脱灰後、2.1 と同様に生理食塩水中に浸漬した。試験片の断面積を脱灰前にマイクロメータで、脱灰後と浸漬後にそれぞれ VDA で計測したが、有意差はなかった。引張試験は以下の手順で行った。プリロード 0.05N をかけ、変位量 0.2mm の伸縮を 10 回繰り返してプリコンディショニングを行った。その後、試験片が破断するまで 0.5mm/min で引張った。

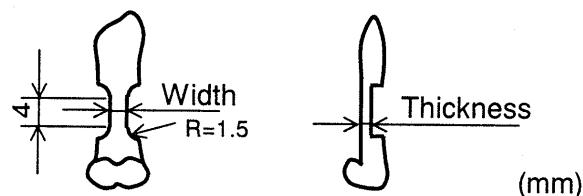


Fig. 1 Shape of tensile test specimens.

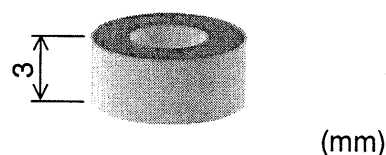


Fig. 2 Shape of compressive test specimens.

2.3 大腿骨の圧縮試験

フライス盤に取り付けた小径のダイヤモンド丸のこ刃を用いて、大腿骨骨幹部から Fig. 2 のような試験片を作成した。切削は骨の温度上昇と乾燥を防ぐため、水を滴下しながら行った。次に、2.1 と同様に生理食塩水中に浸漬した。浸漬前後に VDA で両端面の断面積を測定したが、有意差はなかった。圧縮速度は 0.5mm/min とし、試験片が破壊するまで圧縮した。ロードセル側の治具と固定台側の治具のエッジ間距離の変化を CCD カメラで撮影し、得られた画像を VDA を用いて二値化処理して、ひずみを測定した。

応力はロードセルから得られた荷重を浸漬後の断面積で割ることにより求めた。有意差検定には二元配置の分散分析と多重比較検定を用い、有意水準は 0.05 とした。

3. 結果と考察

ラット大腿骨を 2 週間生理食塩水中に浸漬すると Control に比べて 32, 37, 42℃ で引張強度が有意に低下したが、32, 37, 42℃ の間では有意な変化は現れなかった (Fig. 3)。さらに、4 週間生理食塩水中に浸漬すると 32℃ に比べて 37, 42℃ で引張強度が有意に低下した。また、脱灰することによりコラーゲンのみにした骨の引張強度も同じ傾向を示した (Fig. 4)。これらの結果から、大腿骨は、長期間高温にさらされると、コラーゲンが変性して、力学的強度が低下することが明らかになった。これに対して、膝蓋腱では、浸漬 2 週間で温度の影響を受けて、引張強度が有意に低下した⁴⁾。また、32℃ 群に対する 42℃ 群での強度の低下の割合は、腱で 60% であるのに対して、大腿骨や脱灰骨では約 40% と小さかった。これは、骨と腱ではこれらを構成するコラーゲン線維の配向や構造が異なるためであると考えられる。

圧縮試験においても、4 週間浸漬すると引張試験と同様に、32℃ 群に対して 42℃ 群で骨の力学的強度が大きく低下した (Fig. 5)。しかし、引張試験ではその低下率が 44% であるのに対して圧縮試験では 37% であり、圧縮強度に対する温度の影響の方が若干小さかった。骨が圧縮を受けるときには、コラーゲンよりもハイドロキシアパタイトが負担する力の割合が大きくなる。コラーゲンは約 40℃ で変性し始める³⁾が、ハイドロキシアパタイトの変性温度は非常に高い⁶⁾。このため、コラーゲンが温度の影響を受けて変性しても、圧縮強度に及ぼす影響は小さかったと考えられる。

大腿骨の引張試験と圧縮試験において、Control に比べて 32℃ で同様に強度が有意に低下した。しかし、脱灰骨の引張試験では強度に有意な低下は見られなかった。このことから、32℃ での大腿骨の強度低下は、温度の影響によるものではなく、生理食塩水に浸漬したことによって骨中のハイドロキシアパタイトを構成する燐酸カルシウムが生理食塩水中に溶出したことによると考えられる。

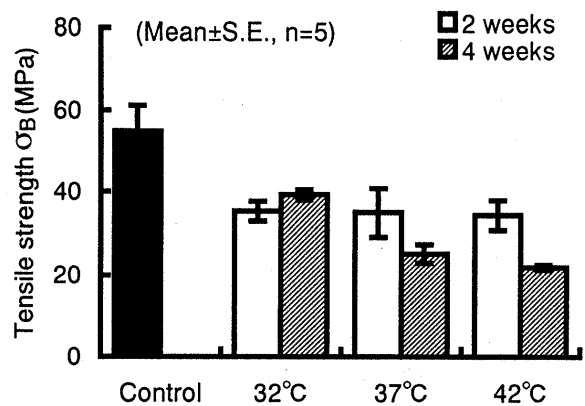


Fig. 3 Tensile strength of rat femurs immersed in a saline solution for 2 and 4 weeks.

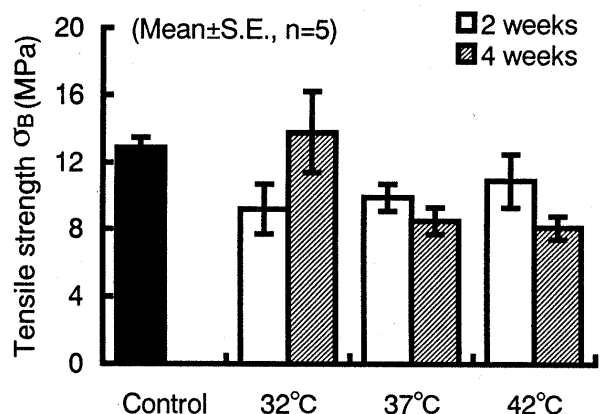


Fig. 4 Tensile strength of demineralized femurs immersed in a saline solution for 2 and 4 weeks.

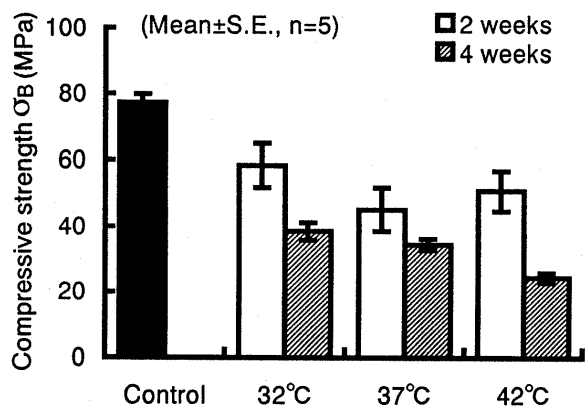


Fig. 5 Compressive strength of rat femurs immersed in a saline solution for 2 and 4 weeks.

参考文献

- 1) 山本憲隆, 他: 日本機械学会 1999 年度年次大会講演論文集 (II), 311-312, 1999.
- 2) Bergmann, G., et al.: J. Biomech., 34, 421-428, 2001.
- 3) 永井裕, 他: コラーゲン代謝と疾患, 講談社, 23-25, 1982.
- 4) 住石憲昭, 他: 日本機械学会第 10 回バイオエンジニアリング学術講演会・秋季セミナー講演論文集, 103-104, 1999.
- 5) 山下陽子, 他: 日本機械学会講演論文集 NO.004-1, 11-57~58, 2000.
- 6) Holden, J.L., et al.: J. Bone Miner. Res., 10, 1400-1409, 1995.