

豚角膜の機械的特性評価

同志社大学[院]

○清吾宗永

同志社大学 田中和人

同志社大学

片山傳生

同志社大学 倉鋪憲

Evaluation of Mechanical Properties of Porcine Cornea

Munehisa SEIGO, Kazuto TANAKA, Tsutao KATAYAMA and Ken KURASHIKI

1 緒 言

近年、眼鏡やコンタクトレンズに代わる新しい屈折矯正手段として LASIK (Laser in situ keratomileusis) が急速に普及している¹⁾。しかし、円錐角膜であるにも関わらず、術前検査を十分に行われずに LASIK を行うと角膜変形などの重篤な合併症を生じる。その一つが角膜拡張症 (Keratectasia または Corneal ectasia) である。

角膜拡張症とは LASIK をはじめとする角膜を切除するエキシマレーザー角膜屈折矯正手術後に起こる、角膜の進行性急峻化と進行性菲薄化であり、近視や乱視が生じ視力が低下する²⁾。

円錐角膜、角膜拡張症は共に診断、治療が困難な眼科疾患であり、生物学的アプローチだけでなく、さまざまな分野からのアプローチが必要とされている³⁾。円錐角膜の機械的特性を評価することによって、将来的に初期の円錐角膜患者の診断や、LASIK の術前検査などにおけるスクリーニング検査に応用可能な検査機器の開発の基礎データになる可能性がある。

角膜の機械的特性評価は Zeng³⁾ や Boyce⁴⁾、Hoeltzel⁵⁾ らによって引張試験で行われてきたが、試験手法には解決すべき課題が残されている。例えば、これまでに試験片は短冊形状を用いていたが³⁾⁻⁵⁾、チャック部で破断するため引張強度が正確に求めることができなかった。また、試料を試験機に取り付ける方法にも課題が残されている。角膜を直接鋸歯状の治具に挟み込んだ方法⁴⁾や、試験片をタブに接着剤で接着し、ピン治具での引張³⁾試験が行われているが、角膜が破断前の荷重下で治具から抜け落ちるといった問題が発生する。そのため、材料特性の正確な把握のためには、試験片の作製方法も含めた生体薄膜材料の機械的特性評価手法の規格化が求められる。更に、円錐角膜や人のドナー角膜を用いて角膜の機械的特性を評価することが望ましいが、円錐角膜や人のドナー角膜は実験に必要な十分なサンプル数を手に入れることが困難である。

本研究ではサンプル数確保のため豚角膜を用いて、測定精度向上のため、ダンベル状試験片を独自で考案したタブで挟み、挟み治具で試験機へ取り付け測定を行った。その結果について報告する。

2 試験片と実験方法

2.1 試験片 実験に使用した豚眼は、生後 180 日前後の豚から取り出され、解体後 24 時間は氷の中で低温保存されていた。その豚眼を約 2 時間実験のために処理を行

った。取り出した角膜は試験を行うまで生理食塩水に浸して約 4℃ で保存した。試験片はダンベル状試験片を用いた。ダンベル状試験片は抜き型を用いて作製し、Fig.1 に示すように幅 5mm、長さ 20mm、中央平行部の幅 1.5mm、平行部長さ 3mm の寸法とし、R 終端部の応力集中率は 1.2 である。角膜は柔らかい生体膜であり、水分を含んでいるので直接試験機に取り付けることは困難である。また微小試験片の引張試験では、試験片を引張試験機に取り付ける際に、試験片が切断されるリスクを低減させる必要がある。そのため試験片は、厚さ 100μm のポリエステルフィルムで作製した Fig.2 に示すようなタブに、接着剤(シアノアクリレート系)とカーボンテープを用いて、Fig.3 のように角膜を挟み込むように固定した。

試験片の幅および膜厚の測定にはユニバーサル顕微鏡 (AZ100 @, ニコン製) を使用した。幅、膜厚ともに試験片中央部を 3 カ所測定し、平均値を試験片中央部の幅および膜厚とした。平均幅は $1.62 \pm 0.07 \text{ mm}$ 、平均膜厚は $1.34 \pm 0.09 \text{ mm}$ となった。

2.2 実験方法 試験機は卓上万能試験機 (EZ graph, 島津製作所) を用いて容量 100 N のロードセルにより荷重を計測した。本装置は速度精度(設定速度の $\pm 0.1\%$)、引張精度(ロードセル容量の $1/250$ 読み値の $\pm 1\%$) が高く、微小サイズの試験片にも対応が可能である。試験機への取り付けは挟み治具を用いた。

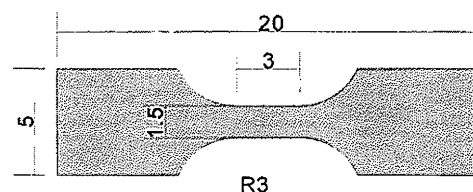


Fig.1 Shape and dimensions of dumbbell specimen.

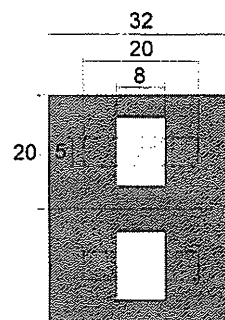


Fig.2 Tab made of Polyester thin film.

試験片をチャック部に固定した後、Fig.3に示すようにタブの両端を切断し、角膜のみに荷重がかかるようにして試験を開始した。引張速度を0.017mm/sec, 0.17mm/secとかえて試験を行った。試験中は角膜の乾燥を防ぐために、試験片全体をアクリル容器で覆い、湿潤空気を充満させることで、高湿状態を保持した。各引張速度での試験片数は5本とした。

3 試験結果と考察

ダンベル状試験片の破断時の様子をFig.4に示す。ダンベル状試験片にすることで中央平行部に応力が集中し、破断したと考えられる。試験機への取り付けもタブに接着剤とカーボンテープを用いたことで滑り抜けせずに試験を行うことができた。

また各引張速度における応力-ひずみ線図をFig.5に示す。応力とひずみの関係は試験開始時から緩やかな曲線を描き、その後線形を描き最大応力を示した後、破断に至る。破断時に応力が垂直に落ちないのは、角膜が5層構造になっており、各層で破断が起きているからである。本研究では、装置およびチャック治具の変形を無視し、チャック間距離8mmを標点間距離と定義し、標点間距離に対する変位量の割合を公称ひずみとして求めた。応力は試験機により計測された荷重を中央部の断面積で除することによって求めた。引張強度は最大公称応力とし、引張速度0.017mm/secで $6.12 \pm 0.59 \text{ MPa}$ 、0.17mm/secで $7.24 \pm 0.84 \text{ MPa}$ となった。引張速度を速くすると強度向上の傾向が認められた。しかし、誤差が大きいため、その有意差を明らかにすることはできなかった。

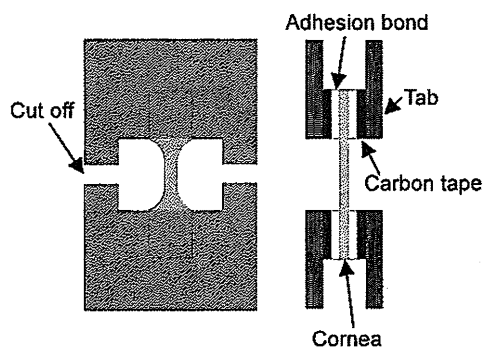


Fig.3 Preparation of the cornea specimen.

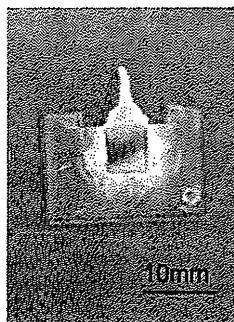


Fig.4 After tensile test for corneal specimen.

2001年に発表されたZeng³⁾らの研究結果では、引張速度0.17mm/secで引張強度が $3.70 \pm 0.24 \text{ MPa}$ であり、本研究結果の約半分の値であった。Zengらは帯状試験片をピン治具で固定して引張試験を行っている。そのため、ピン周辺のチャック部に応力が集中し、試験片中央部で破断していないことが考えられる。また、膜厚の測定結果が本研究では $1.34 \pm 0.09 \text{ mm}$ であったのに対して、Zengらは1.0mmであった。引張強度を求める上で、試験片寸法は重要な要素である。試験手法や、寸法の測定値の違いによって本研究の結果がより大きな値をとったと考えられる。

4 まとめ

角膜の引張試験では、試験片形状をダンベル状にすることで、チャック部での破断を防ぐことができ、挟み治具とタブ、接着剤、カーボンテープで試験片を固定することで試験中の抜け落ちを防ぐことができた。応力-ひずみ関係を測定することもできた。引張強度は、引張速度0.017mm/secで $6.12 \pm 0.59 \text{ MPa}$ 、0.17mm/secで $7.24 \pm 0.84 \text{ MPa}$ となった。また速度依存性における引張強度の違いは誤差が大きいため有意差は見られなかった。

今後は非接触3次元計測解析システムを用いてひずみを計測し、応力-ひずみ関係を測定する予定である。

参考文献

- 1) Alan Suger et al., the American Academy of Ophthalmology, vol.109, No.1, pp.175-187, (2002).
- 2) Beeran Meghpara et al., ARCH OPHTHALMOL, vol.126, No.12, pp.1655-1663, (2001).
- 3) Yanjun Zeng et al., Journal of Biomechanics, vol.34, pp.533-537, (2001).
- 4) B. L. Boyce et al., Journal of Biomechanics, vol.40, pp.2367-2376, (2007).
- 5) David A. Hoeltzel et al., Transactions of the ASME, vol.114, pp.202-215, (1992).

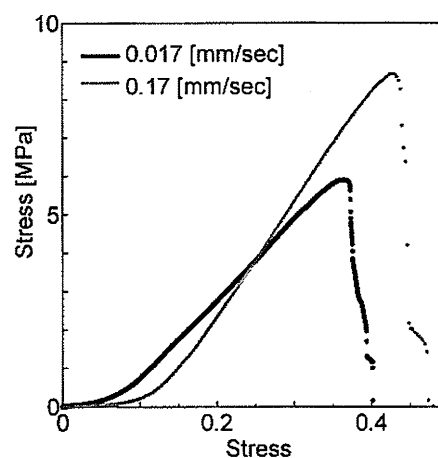


Fig.5 Stress-Strain curves.