

Application News

生体組織の物性評価

平丸 大介, 西川 祐貴

ユーザーベネフィット

- ◆ 湿潤で柔軟な生体組織や生体関連材料の物性を測定できます。
- ◆ 試料のサイズと形状によらずに弾性率を評価し硬さの比較を可能にします。

はじめに

再生医療の治療応用に向けて、様々な研究機関や企業により精力的な研究が行われています。近年では生体内の臓器に近い性質を再現した各種オルガノイドが注目されており、現代医療では治療困難とされた様々な臓器不全に対して画期的な治療を提供することが期待されています。この臓器機能を再現するオルガノイドは三次元的に培養する必要があり、細胞が生着するための足場材も適切な組織培養の重要な要素の一つと考えられています。

この細胞培養に用いられる足場材において、その硬さは培養における重要な要素であり、細胞の特性が足場の硬さに応じて変化する事例も紹介されています。試料の弾性率は硬さと相関があり、弾性率が高いほど硬く、低いほど柔らかいといえます。本稿では、微小強度評価試験機 マイクロオートグラフ MSTを用いて、足場材と鶏肝臓の硬さを弾性率により定量評価した事例を紹介します。

測定試料

細胞培養の足場材であるマイティー(CSM-50)、ハニカム(CSH-96) (いずれも株式会社高研様の製品AteloCell®シリーズコラーゲンスポンジ) と、生体組織の一例である鶏肝臓を測定試料として用いました。いずれの測定試料も前日から測定直前までPBS (リン酸緩衝液生理食塩水) に浸漬することで乾燥による状態変化を避け、培養時と同様の湿潤状態にしました。

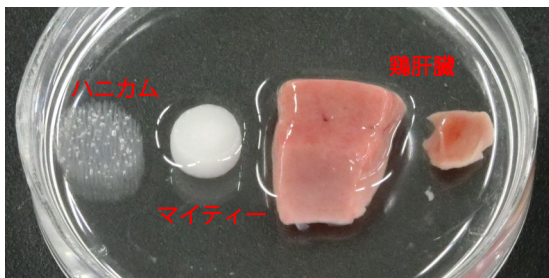


図1 足場材と鶏肝臓の様子

測定方法

本試験の測定条件を表1に示します。押し棒は後述の物性評価を行うために先端が半球状の押し棒を選択しました。

表1 測定条件

装置	: マイクロオートグラフMST
ロードセル	: 負荷容量 5 N
試験治具	: レトルトパウチ突き刺し治具 (先端R 0.5 mmの半球状押し棒)
試験速度	: 1.0 mm/min

測定の様子を図2に示します。直前までPBSに浸漬していた測定試料をステージ上にセットし、突き刺し試験を実施します。実体顕微鏡 (オプション) を用いることで突き刺し時の変形の様子をリアルタイムで観察することが可能です。

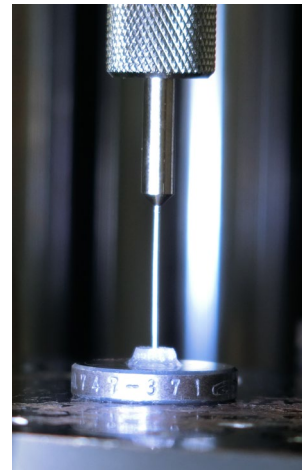


図2 測定の様子

サイズと形状によらない物性評価方法

生体組織や培養組織は不定形な場合が多く、適切な試験片形状を形成できない場合もあります。そのような測定試料でも硬さ評価を実現するため、測定試料のサイズによらない物性評価方法を採用しました。

本試験を図3に示すように無限の平面弾性体と半球面の押し棒との接触問題として、ヘルツの接触式¹⁾に適用しました。試験力と突き刺し深さの関係は式(1)となり、測定試料のサイズ・形状に関係なく弾性率を求めることが可能です。

$$P = \frac{4ER^{1/2}}{3(1-\nu^2)} h^{3/2} \Leftrightarrow E = \frac{3(1-\nu^2)}{4R^{1/2}h^{3/2}} P \quad \dots \text{式(1)}$$

P : 押し棒が受ける力, E : 弾性率, ν : ポアソン比
 R : 押し棒の半径, h : 突き刺し深さ

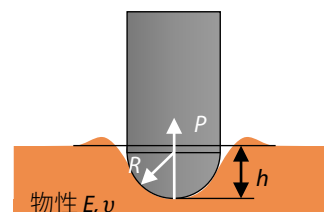


図3 本試験のモデルイメージ

■ 測定結果

3種類の測定試料の測定結果を図4、5に示します。測定試料ごとに異なる傾きを示しており、測定試料の種類ごとに硬さの違いが明確になりました。

鶏肝臓については図1に示すように大小の測定試料を測定し同様の結果が得られたことから、本試験方法はサイズの影響を排除できる試験方法である可能性が示されました。

弾性率算出にあたり、試験力や突き刺し深さが0の近傍では、振動や風の影響を受けやすく弾性率が不安定になります。一方、突き刺し深さが0.3 mm以降は、特にハニカムと鶏肝臓で試験力にばらつきが見られます。これは多様で複雑な内部構造に起因すると思われる。

以上より、深さ0.1 mmから0.3 mmの範囲での突き刺し深さと試験力を用いて式(1)から弾性率を算出しました。このときポアソン比は0としています。表2に各測定試料の弾性率の算出結果を示しており、弾性率はマイティー 635 kPa、ハニカム 12.0 kPa、鶏肝臓 1.41 kPaです。参考文献にてヒト関節軟骨が200 – 800 kPa^{2,3)}、ヒト肝臓が0.5 – 7 kPa⁴⁾と報告されており、様々な生体組織の物性評価に適切な測定方法といえます。

表2 各測定試料の弾性率 (平均値)

試料	マイティー	ハニカム	鶏肝臓
弾性率 [kPa]	635	12.0	1.41
弾性率比	449	8.52	1

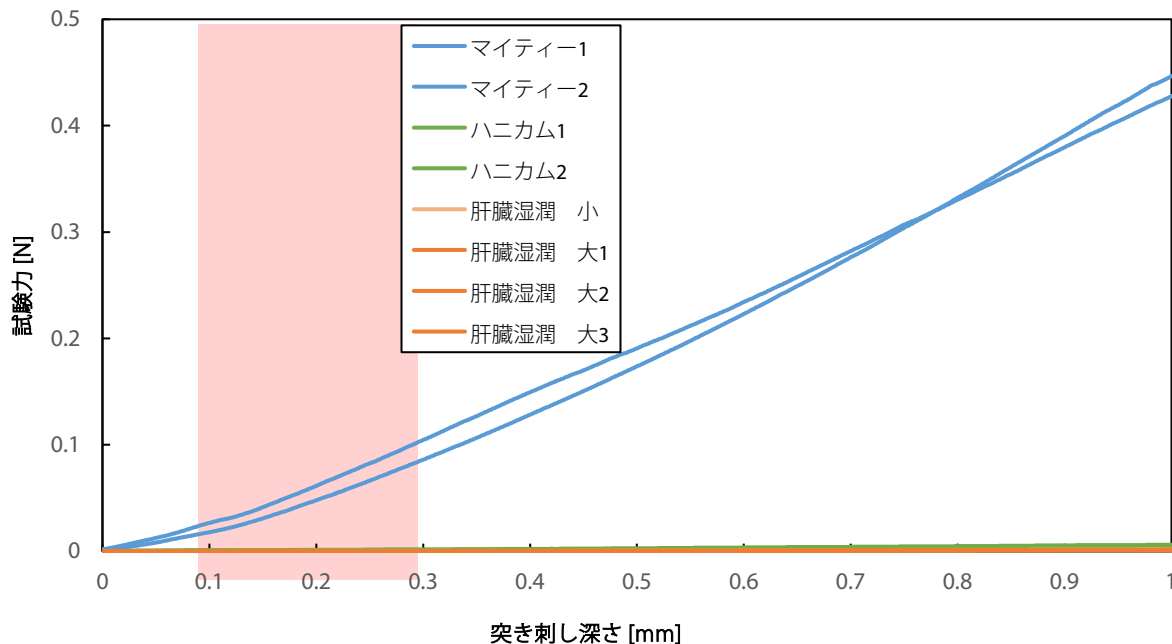


図4 突き刺し試験での試験力-変位線図

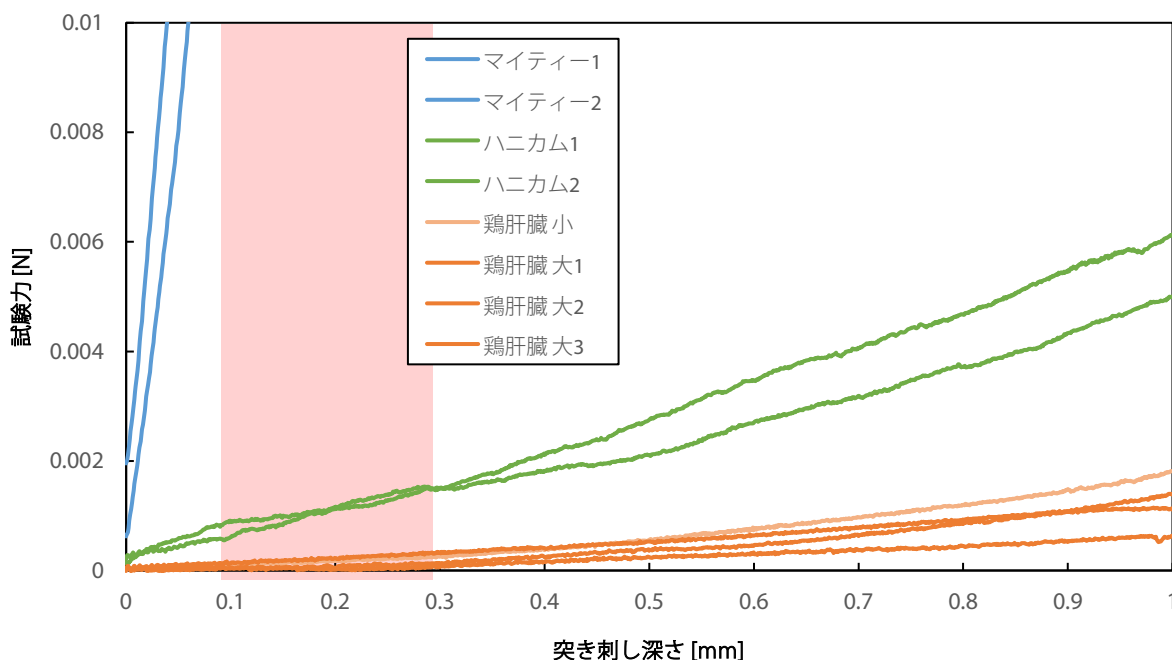


図5 突き刺し試験での試験力-変位線図 (低試験力領域の拡大図)

■ 適応サイズの限界についての検討

ヘルツの接触式を用いた、試験力と突き刺し深さの関係を示す式(1)は、試料の形状を無限の平面と仮定しているため、極端に小さいもしくは薄い試料では成立しないことが予想されます。そこで、FEM解析を用いて式(1)が成立するサイズ限界の目安について検討しました。

測定結果の弾性率算出範囲の中央値である突き刺し深さ0.2 mmの条件で、図6に示すような円筒状のサンプルを突き刺すモデルを用います。ここで試料半径 r と試料厚さ t を変数とし、突き刺しに対する試験力 P をシミュレーションにて求めます。無限と同等とみなせる十分な大きさの条件 ($r = 100 \text{ mm}$, $t = 100 \text{ mm}$) の測定試料で得られる試験力 P_{∞} と比較することで、試料サイズにより見かけの弾性率がどの程度変化するかを求めることが可能です。シミュレーションに用いた条件を表3に示します。

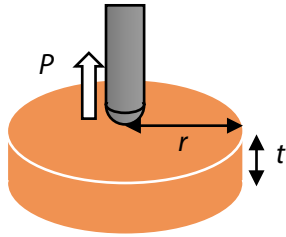


図6 FEMによるシミュレーションのモデルイメージ

表3 シミュレーションに用いた物性条件

材料特性	弾性体を仮定
押し棒の半径 R [mm]	0.5
突き刺し深さ [mm]	0.2
試料の弾性率 E [kPa]	40 ※臓器モデル推定値
ポアソン比 ν	0

シミュレーションの結果を図7に示します。厚さ t については約6 mm未満では見かけの硬さが5 %、約3 mm未満では10 %柔らかく評価されることが分かりました。また、見かけ上1 %柔らかく評価される閾値が半径 r と厚さ t の直線関係にあることが分かりました。これはアスペクト比の影響と考えられます。これらの結果から、式(1)が実用的に成立する目安として式(2)を満たす必要があることが明らかになりました。

$$\left. \begin{array}{l} t < 2r - 2.8 \\ t > 6 \end{array} \right\} \dots \text{式(2)}$$

本検討において試料弾性率の大小の影響を評価するため弾性率15 MPaの条件でもシミュレーションを行いました。同様の結果となりました。このことから、式(2)は本試験の全測定試料に適応可能な条件式といえます。

■ まとめ

MSTによる突き刺し試験では、湿潤で柔軟な生体組織や生体関連材料の物性を簡便に定量評価可能です。さらに、ヘルツの接触式を用いることで、測定試料のサイズや形状によらない、弾性率(硬さ)の比較を可能としました。加えて、シミュレーションを用いて本試験で使用したヘルツの接触式の適応範囲を明らかにすることで、本試験の妥当性を確認することができました。

<参考文献>

- 1) Xinyao Zhu, E. Siamantouras, K. K. Liu, X. Liu, J Mech Behav Biomed Mater, 56, 77-86
- 2) K. A. Athanasiou, M. P. Rosenwasser, J. A. Buckwalter, T. I. Malinin and V. C. Mow, J Orthop Res, 9, 330-40
- 3) F. Boschetti, G. Pennati, F. Gervaso, G. M. Peretti and G. Dubini, Biorheology, 41, 159-66
- 4) W.-C. Yeh, P.-C. Li, Y.-M. Jeng, H.-C. Hsu, P.-L. Kuo, M.-L. Li, P.-M. Yang and P. H. Lee, Ultrasound in Med. & Bio., 28, 467-474

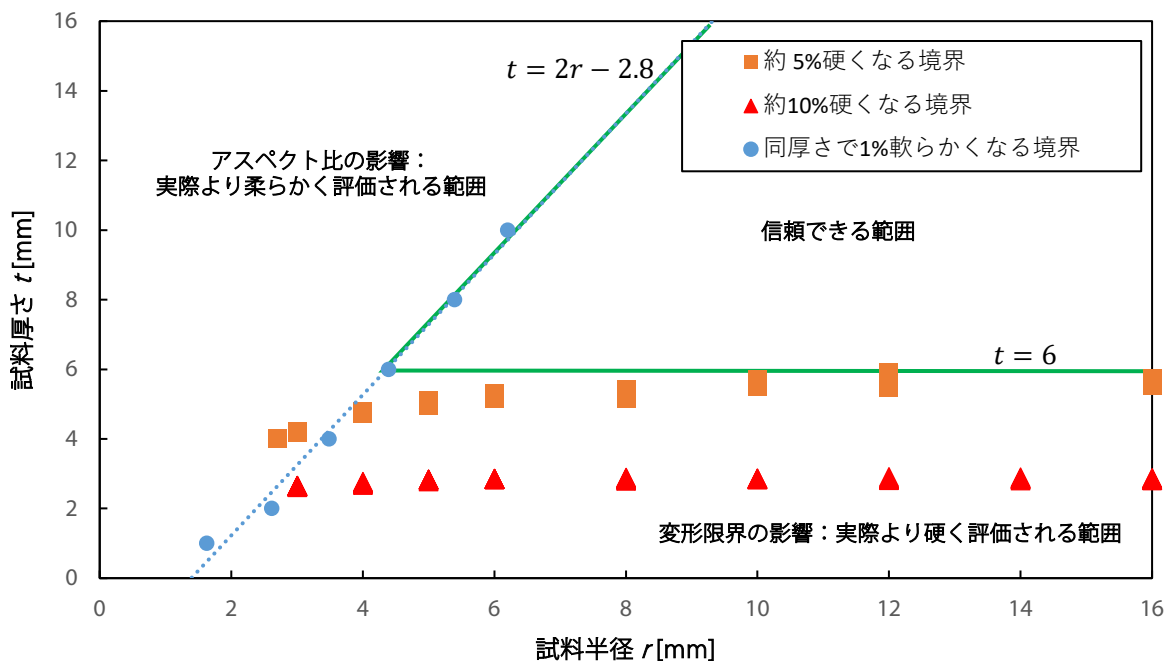


図7 厚さと半径による試験力への影響評価

株式会社 島津製作所

01-00301-JP 初版発行：2022年4月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文書に記載されている製品は、医薬品医療機器等法に基づく医療機器として承認・認証等を受けた機器ではありません。本文書に記載されている分析手法を診断目的で使用することはできません。

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。最新版は、島津製作所>分析計測機器の以下のサイトより閲覧できます。

<https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/index.htm>

会員制情報サービス Shim-Solutions Club にご登録いただけますと、毎月の最新情報をメールでご案内します。新規登録は、<https://solutions.shimadzu.co.jp/> よりお願いします。

© Shimadzu Corporation, 2022