

バイオメカニクスから見た脊髄の加齢に関連する変化の検討

氏名 岡崎朋也

所属 山口大学大学院医学系研究科

システム統御医学系専攻 整形外科学分野

平成 30 年 9 月

目次

1.	要旨	3
2.	背景	4
3.	目的	4
4.	対象と方法	4
	(1) 対象	4
	(2) 引張試験	4
	(3) 有限要素法	6
	(4) 圧迫モデル	6
5.	結果	7
6.	考察	11
7.	Limitation	12
8.	結語	12
9.	謝辞	12
10.	参考文献	12

バイオメカニクスから見た脊髄の加齢に関連する変化の検討

1. 【要旨】

【はじめに】 頸椎症性脊髄症（CSM）の発症、進行や術後成績に加齢が関係していることはよく知られている。これまで我々はウシ脊髄の引張試験を行い灰白質と白質の物理学的性質を報告したが、加齢による脊髄の物理学的変化は不明であった。また加齢による変化を考慮したコンピューターシミュレーションの報告はない。今回、若年と老齢ウシの灰白質と白質を採取して引張試験を行い、得たデータを用いて脊髄の有限要素法（FEM）解析を行い、加齢が脊髄にどのような影響を与えるか検討した。

【対象と方法】 若齢と老齢ウシ脊髄から白質と灰白質を打ち抜き試料を作成した。各試料を引張試験機に取り付け、ひずみ速度 10mm/s で試料が破断するまで引っ張り、応力-ひずみデータを得た。そのデータを白質、灰白質、歯状靭帯と軟膜からなる FEM 脊髄モデルに設定し、前方からの静的圧迫、動的圧迫、前方からの静的圧迫+後方からの動的圧迫の計 3 つの圧迫シミュレーションを行い、脊髄内の応力変化を評価した。

【結果】 若年ウシの灰白質は白質より硬く脆かった。老齢の灰白質と白質はほぼ同じ硬さに変化し、若齢に比べ老齢の脊髄の方が易損傷性であった。FEM 解析では同様の圧迫を加えた場合、老齢の脊髄データを設定したモデルの方が若齢より脊髄内応力が有意に高かった。

【考察・結語】

加齢に伴う脊髄の物理学的特性の変化により、脊髄内応力は加齢により上昇する。この特性の変化が頸髄症の発症や進行、術後成績に影響する因子の 1 つと考えられた。

2. 【背景】

人間は加齢とともに衰えていくことはごく一般的なことである。Nurick らは頸椎症性脊髄症の一般的な経過を解析し、加齢が症状の進行に影響を与えることを報告した(1)。加齢は頸椎症性脊髄症の発症や進行に重要な役割を果たすことは知られているが、はっきりしたメカニズムは不明である。これまで我々は若年ウシの灰白質、白質に対して引張試験を元に得られたデータを用いて有限要素法解析を行ってきた(2)。有限要素法に基づいたこれらのデータは頸椎症性脊髄症の病態解明に有用であることは論を待たないが、これまでの研究は若年ウシを用いた結果であり、加齢に伴う影響を検討できていない。そのため、これまでの結果は高齢者における頸椎症性脊髄症の病態に対して妥当ではない可能性がある(3-5)。年齢を考慮した脊髄の機械的特性や応力上昇を研究した報告は渉猟する限り認めなかった。そのため年齢の異なったウシ脊髄の機械的特性の評価及び有限要素法解析を行うことで加齢に伴う脊髄の変化を検討する必要があると考えた。

3. 【目的】

年齢の異なったウシの引張試験を行うことで脊髄の機械的特性の評価を行い、加齢に伴う物理的特性の変化を検討することである。さらにそのデータを有限要素法解析に使用することで年齢の異なったウシ脊髄の応力変化を検討する。

4. 【対象と方法】

(1) 対象

防府市食肉センターで屠殺された牛海綿状脳症(BSE)は陰性の牛を使用した。実験は屠殺後6時間以内に入手し、10時間以内に実験を完了させた。若齢ウシ(46.3±1.15か月)、老齢ウシ(208±14.8か月)の2グループに分けて実験を行った。実験に使用したウシ標本、機械に関しては防府市保健センター及び山口県生活衛生課の指導監督を受けている。また山口大学動物使用委員会より、本研究の標本は食用のために屠殺された牛の脊髄である。山口大学の規則では生体を用いる研究が対象とされており、本研究は審査の対象外で倫理的許可は不要との承諾を受けている。

(2) 引張試験

これまで我々が行っている引張試験を若齢、老齢ウシに対して施行した(Fig1)(2.6)。ウシ頸椎椎弓から慎重に脊髄を取り出し、第3頸椎を中心に20mmのサンプルを採取した

(Fig1A)。このサンプルから骨髓生検針(内径 2.5mm、泉工医科工業、日本)とスピードガン(HS-2-7” Biomed-Intrumente Produce GmbH, ドイツ)を用いて、長軸方向に灰白質、白質を採取した (Fig1B, C) 灰白質は前角を採取し、白質は側索を採取した。CCDLaser Micrometer(IG-010;KEYENCE、日本)を用いてサンプルの径を3カ所計測し、断面の長径が10 mm以内であることを確認した。標本の両端はそれぞれネオプレーンプレート (10×8×2 mm) で挟み込み cyanoacrylate super glue(強力接着剤)で固定した。これらの準備後すぐに引張試験機に挿入(Fig1D)し、サンプルの準備後5分で実験は完了させた。実験室は湿度を保ち、室温は25度に保つことでサンプルの乾燥を防いだ。標本は頸椎内に入っていた長さをゼロポジションとして、そこから引き延ばし始めた。引張試験機は high precision linear guide actuator (ポジショニングの正確性±0.001 mm : THK 日本) と servo motor (150W、1500rpm、安川電機、日本) から構成しており、PCに接続したコントローラでスピードや配置を調整した。Load cell (Microload Cells LVS-20GA 協和電気機械 日本) を actuator に取り付け、把持器をテーブルと Load cell に設置した。引張試験では、牽引速度は10 mm/sec に固定し、脊髓標本は破断するまで牽引を行った。

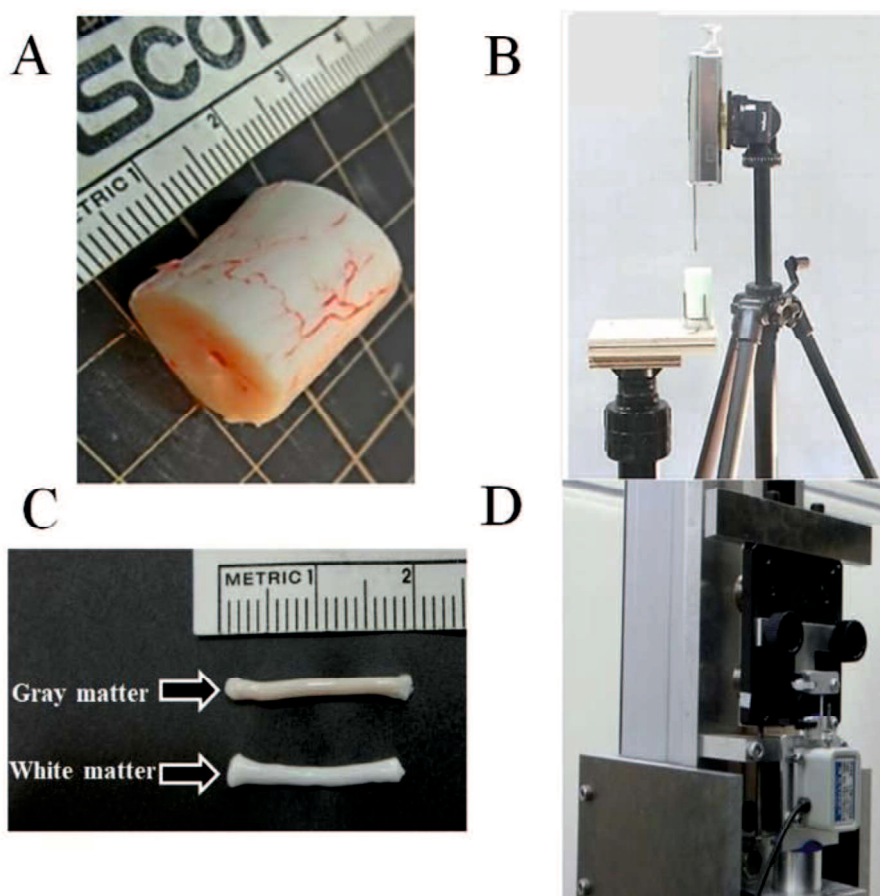


Fig 1 A-D

Fig1A. 20 mmに切り出した第3頸髄. Fig1B. 骨髓生検針及びスピードガン. Fig1C. 灰白質及び白質. Fig1D. 引張試験機

(3) 有限要素法解析 (FEM)

引張試験で得られたデータを用いて灰白質と白質の機械的特性を検討した。脊髓モデルは Abaqus V6.8 (Dassault Systemes Simulia Corp., USA) とこれまでの研究からデザインした (6)。

引張試験から得られた白質、灰白質、歯状靭帯、脊髓軟膜の超弾性と粘弾性のデータを用いて脊髓モデルを作成した。ポワソン比は 0.4 とし、総要素数は 3873、総節点数は 3762 となった。脊髓の前後径は計算を簡便にするため 10 mm と規定した (Fig2A)。

後方の剛性体は椎弓後方のアーチを形作るように X 軸方向に 25 度の傾きを作成した。脊髓を被覆する軟膜から延びる歯状靭帯は X 軸、Y 軸方向でそれぞれ固定させた。圧迫が起こると真っ先に個方のアーチに接触する脊髓後方は X 軸、Y 軸方向に固定させた。

(4) 圧迫モデル

前方から圧迫を行うため、X 軸方向に 0 度作成の剛性体を作成し、前後方に向かって (Y 軸方向に) に脊髓を圧迫できるようにした。この剛性体は前方からの骨棘を想定している。さらに後方からの圧迫のため径 3 mm の円盤状の剛性体を個方 65 度の傾きで作成し、脊髓中心部に向かって後方から前方に向かって圧迫をかけるようにした。この両方で脊髓を静的動的に圧迫することとした。(2) 本研究では、有限要素法で慢性、急性、慢性の急性増悪の 3 種類の圧迫モデルを検討した。(4) これまでの研究から得られたデータでひずみ速度を 0.008m/s を静的な圧迫速度とした (7)。動的圧迫速度はボランティアのむち打ち症患者から得られたデータを元に 2.22m/s とした (8)。モデルの圧迫の度合は、頸髄症の病理研究のデータを元にして脊髓前後方向に 30% とした (9)。慢性、急性、慢性の急性増悪それぞれの圧迫の程度は以下の通りとした。慢性は静的圧迫を前方から 30% 加えた (Fig2B)。急性は動的圧迫を前方から 30% で加えた (Fig2B)。慢性の急性増悪モデルは、はじめに 20% の静的圧迫を前方から 20% 加え、続いて 10% の動的圧迫を後方から加えた (Fig2C)。

脊髓の構成要素それぞれにかかる許容可能な応力の程度は異なっているため、我々は許容可能な応力の程度を超えたときに不可逆的なダメージを受けると仮定して構成要素の応力の限界値 (許容可能な値) を設定した。脊髓モデルでは応力の限界値を超えたときに赤色で示されるようにした。以前の研究から白質の破断は 0.28 の伸長で起こることが分かっている (10)。今回の研究では白質の破断は 0.28 とし、若年ウシの白質は 0.015MPa、老齢ウシは 0.046MPa に相当する。他の研究 (4) から灰白質の破断、若年の灰白質の破断は 0.386 とし、応力値 0.092MPa に相当する。老齢の破断は 0.59 であり、応力値は 0.060MPa に相当した。また以前の結果から軟膜の最も弱い部位である後外側溝の許容可能な応力値は 3.0MPa とし、歯状靭帯は 18.7MPa とした (5)。統計学的検討は Stat view ver5 で行った。

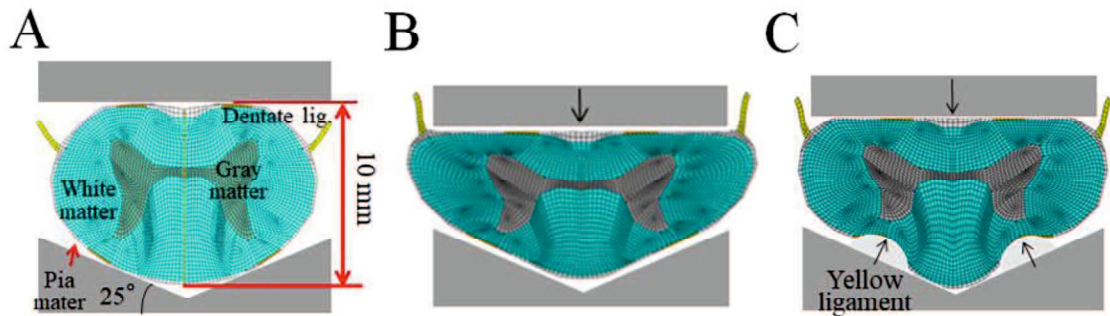


Fig2A. 灰白質、白質、軟膜、歯状靱帯を規定し、前後方に 10 mm で作成

Fig2B. 急性モデル、慢性モデルは前方から圧迫

Fig3C. 慢性の急性増悪モデルは後方からも圧迫

5. 【結果】

引張試験

老齡ウシ及び若齡ウシの灰白質

0.0-0.4 の範囲で脊髄を引っ張った場合、応力量及び接線係数は若齡ウシの方が老齡ウシより有意に高かった。しかしながら、0.4 以上になると応力量と接線係数は逆転し老齡ウシの方が有意に高くなった。さらに引張張力は若年ウシの方が有意に高かった (Table I, Fig. 3A)

老齡ウシ及び若齡ウシの白質

0.4-0.6 の範囲で脊髄を引っ張った場合、老齡ウシの接線係数は若齡ウシに比べ有意に高かった。しかしながらこの範囲を超えた後の接線係数は老齡、若齡で有意差はなく、破断時も応力に変化は認めなかった。(Table I, Fig. 3B)

老齡ウシの灰白質と白質

0.0-0.1 の範囲で脊髄を引っ張った場合及び 0.4 以上の場合、白質の接線係数は灰白質に比べ有意に高かった。0.1-0.4 の場合には接線係数の差は認めなかった。灰白質は白質に比べ早期に破断した。さらに白質の引張張力は著明に高かった (Table I, Fig. 3C)

若齡ウシの灰白質と白質

灰白質の接線係数はすべての領域で白質に比べ有意に高かった。破断は灰白質が有意に早く起こったが、引張張力の違いは認めなかった ((Table I, Fig. 3D)

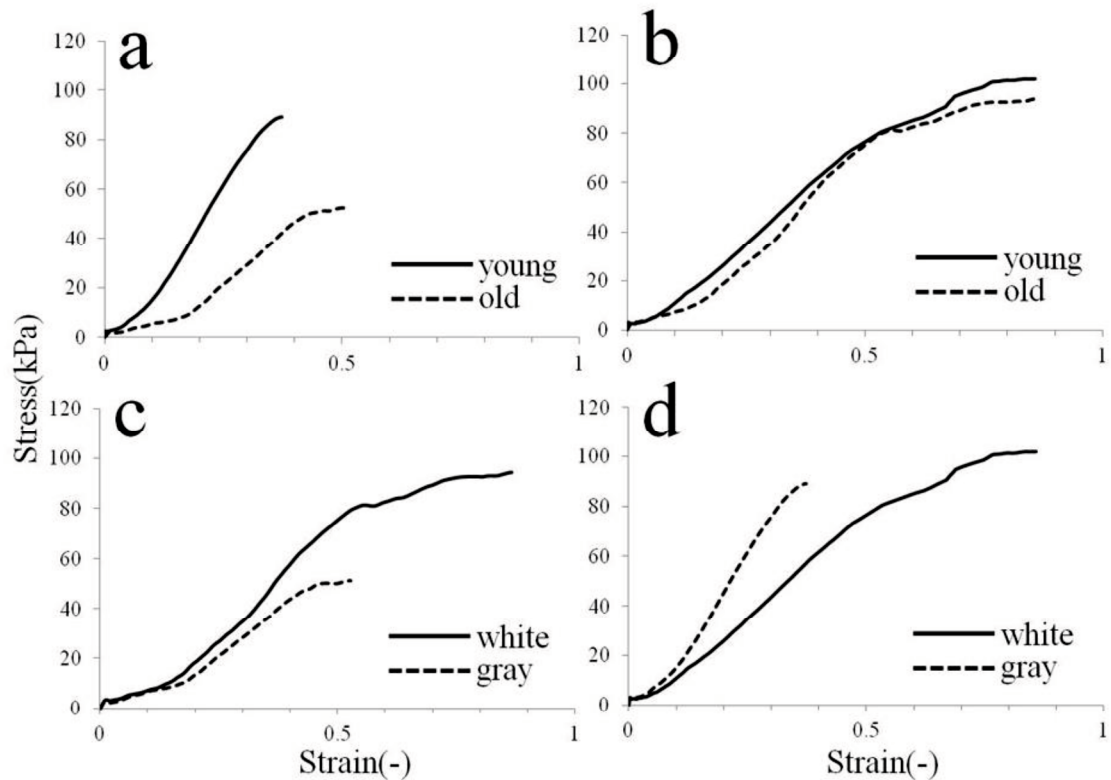


Fig3a. 若年ウシ、老齢ウシの灰白質の引張試験. 老齢ウシの方が柔らかく、脆い
 Fig3b. 若年ウシ、老齢ウシの白質の引張試験. 老齢、若齢に差はない
 Fig3c. 老齢ウシの灰白質、白質の引張試験. 硬さは同等だが、灰白質は脆い
 Fig3d. 若齢ウシの灰白質、白質の引張試験. 灰白質が硬く、脆い

有限要素法

慢性圧迫モデル

前方から 1 mm 圧迫をかけた群では若齢、老齢ともに脊髄の内圧は低いままであった

(Fig. 4Aa, Ba)。前方から 2 mm をかけた群では若齢の場合前角と後角に取り囲む白質が緩やかに内圧上昇を認めた (Fig. 4Ab)。老齢では灰白質が内圧内圧上昇を認め、灰白質を取り囲む白質に高い内圧上昇を認めた (Fig. 4Bb)。前方から 3 mm 圧迫を加えた群では若齢では灰白質を取り囲む白質がすべて高い応力上昇を認めた (Fig. 4Ac)。老齢では後索を除くすべての部位に高い内圧上昇を認めた (Fig. 4Bc)

急性モデル

前方から 1 mm の圧迫をかけた群では脊髄前方にわずかな内圧上昇を認めた Fig. 4Ca and Da)。前方 2 mm の圧迫をかけた群で若齢ウシでは前索にわずかな内圧上昇を認め、側索に

高い内圧上昇を認めた (Fig. 4Cb)。一方で老齢ウシでは灰白質の後角を中心に高い内圧上昇を認めた。一方で前索を除いた白質に内圧上昇を認めた (Fig4Db)。3 mmの圧迫を加えたが群では若齢で白質全域に高い内圧上昇を認めた (Fig. 4Cc)。若齢の慢性圧迫モデルと比較すると急性モデルの方がより広範囲に内圧上昇を認めていた。老齢ウシでは後索を除くすべての白質灰白質に高い内圧上昇を認めた (Fig. 4Dc)。

慢性の急性増悪

前方 2 mmの静的圧迫に加え、後方から 0.5 mmの動的圧迫を加えた。若齢では後索と後角周囲に内圧上昇を認めた (Fig. 4Eb)。老齢では前方 2 mmの静的圧迫のみに比べ後索と後角に著明な内圧上昇を認めた (Fig4Fb)。

前方 2 mmの静的圧迫に後方 1.0 mmの動的圧迫を加えた群では、若齢で後索、後角に加え側索にも内圧上昇を認めた (Fig4Ec)。老齢ではすべての灰白質及び灰白質を取り囲む部位の白質の内圧上昇を認めた。前索の内圧は若齢に比べ著明に高かった (Fig4F)

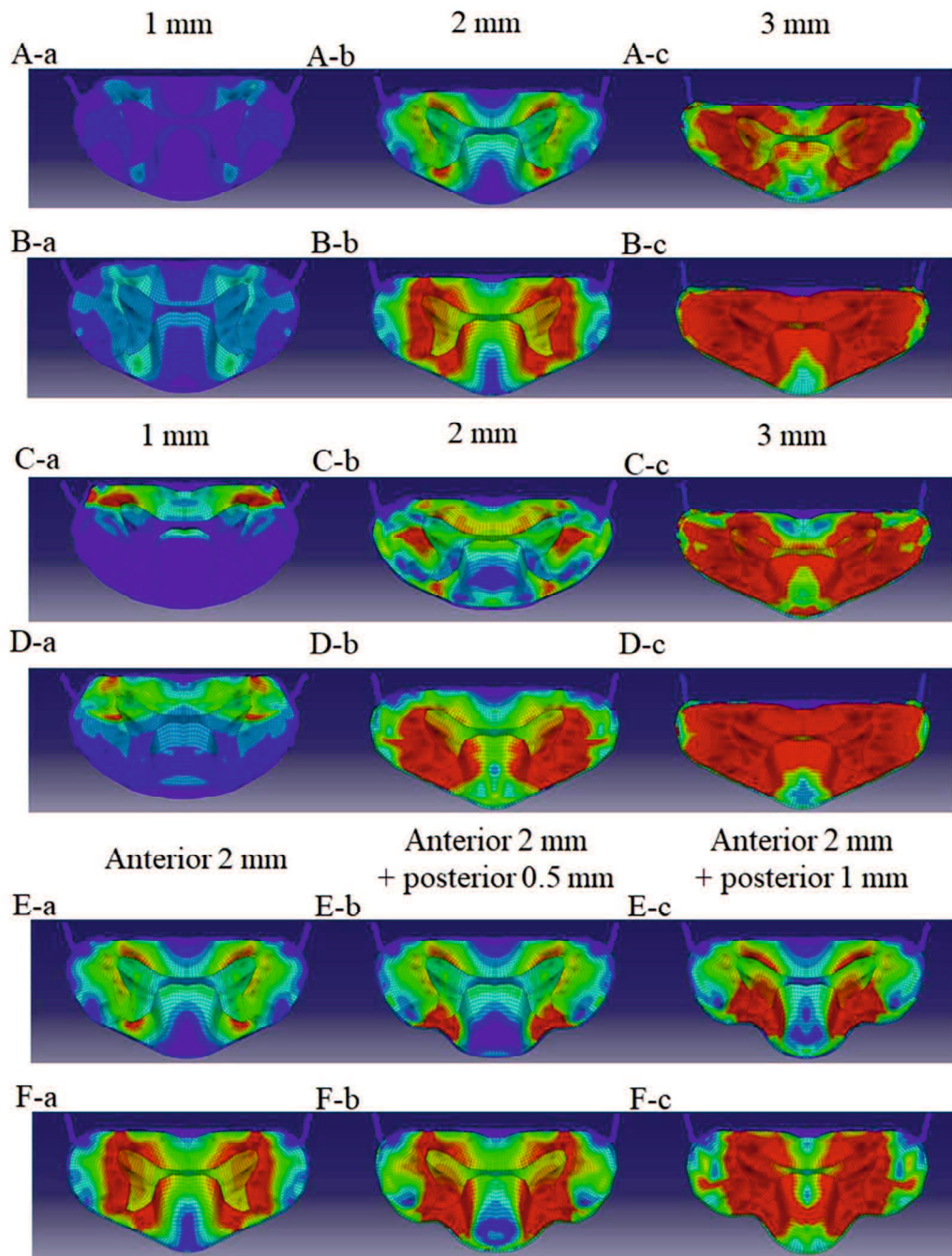


Fig4A 若齢ウシの慢性モデル. Fig4B. 老齢ウシの慢性モデル. Fig4C. 若齢ウシの急性モデル. Fig4D. 老齢ウシの急性モデル. Fig4E. 若齢ウシの慢性の急性増悪モデル. Fig4F. 老齢ウシの慢性の急性増悪モデル

6. 【考察】

これまで我々は若齢ウシでの引張試験を行い、灰白質は白質に比べ硬く脆いとの報告をした(2)。我々は有限要素法に基づいた頸椎症性脊椎症の考えられる病因についてこれまでにいくつか報告してきた(6, 11-16)。我々の報告は臨床報告のデータをサポートできる解析ではあったが、本研究は機械的特性のみに主眼をおいて行った。その理由としてこれまでの報告は若齢ウシの脊髓を用いて実験を行ってきたことがあげられる。若齢ウシの脊髓の機械的特性を評価し分析することは、高齢者に多く起こる頸椎症性脊髓症の病態解明には適切でない可能性は否定できない。それゆえ、今回我々は老齢ウシの頸髓を用いて引張試験と有限要素法を行った。

本研究では、はじめに若齢と老齢ウシの灰白質・白質を使用して引張試験を行った。そして引張試験から得られたデータを用いて有限要素法を行った。

我々の結果は若齢と老齢ウシの機械的強さが異なることを示すことができた。老齢ウシの灰白質は若齢に比べ軟化し破断しにくい。若齢ウシの灰白質は同じウシの白質に比べより硬く脆い。老齢ウシにおいては灰白質と白質の硬さは同等であるが、灰白質は白質より脆くなった。

これらの結果を基にした有限要素法では同等の応力を加えても若齢ウシに比べ老齢ウシはより脊髓内圧上昇を起こしやすかった。

これまで若齢と老齢脊髓の機械的特性の違いを検討した報告は渉猟する限り認めなかった。基礎実験としての報告はないが、加齢と術後成績について関連するという臨床報告はいくつか認められる。Suri らは40才以下とそれ以上で術後成績に差があると報告している(17)。Chagas ら60歳以上と未満で加齢が術後成績に差があるとしている(18)。

Nagashima らは高齢者においては若年に比べ上下肢の運動機能の低下が出やすいと報告している(19)。Nurick らは頸椎症性脊髓症は若年に比べ高齢者はより進行しやすいと報告している(1)。

脊髓が何らかの圧迫病変の存在なしに外力が加わることは一般的ではない。我々はウシ脊髓において加齢により機械的特性が異なることを証明できた。この点については、高齢者の頸椎症性脊髓症が発症しやすく、術後成績が不良であることを示した臨床報告の結果を支持できるものである。また若年と同様の脊髓圧迫が起こった場合に高齢者の脊髓は早期に内圧上昇しやすいことも証明した。白質と灰白質は加齢に伴い形態学的に変化するとの報告も散見される(20, 21)。高齢の患者において頸椎症性脊髓症に伴う脊髓症状が多岐にわたることは、若齢と老齢の脊髓内圧の違いによる可能性も示唆される。また機械的特性の変化に伴い症状が多岐に及ぶことは高齢患者における頸椎症性脊髓症の診断を難しくする要因の1つかもしれない。

7. 【Limitation】

これまでウシとヒトとの年齢の相関を求めた論文はなく、ウシの老齢と若齢がヒトに合致するかは検討が困難である。次に我々は引張試験の結果のみで有限要素法モデルを作成した。その理由としては現在引張試験のみが機械的特性を検証できる唯一の方法のためである。また頸髄症は脊髄の物性のみでなく、血流や周囲の組織の変化など種々の要因で起こることがあげられる。本研究は上記の限界はあるが、加齢に伴い物性に変化がおき、それによって脊髄内圧の上昇がより起こりやすいことが説明可能であった。

8. 【結語】

若齢ウシと老齢ウシの機械的特性の違いを検討し、それを基にして有限要素法を行った。有限要素法で若齢、老齢ウシで応力上昇の違いを認めた。高齢の患者では若齢に比べ同程度の応力を加えられたとしても頸椎症性脊髄症を発症しやすい可能性が示唆された。

9. 【謝辞】

本研究に際し実験の遂行・データ分析や論文作成にご尽力いただいた寒竹司先生、市原和彦先生、西田周泰先生、本研究にあたりご指導ご鞭撻いただいた田口敏彦先生に深謝いたします。

本論文は下記雑誌にて公開している論文を和訳したものである。

Experimental and Therapeutic Medicine より学位論文としての投稿を許可されている。

Tomoya Okazaki, Tsukasa Kanchiku, Norihiro Nishida, Kazuhiko Ichihara, Itsuo Sakuramoto, Junji Ohgi, Masahiro Funaba, Yasuaki Imajo, Hidenori Suzuki, Xian Chen, Toshihiko Taguchi. Age-related changes of the spinal cord: A biomechanical study. Journal of Experimental and Therapeutic Medicine Vol.15 Issue.3P.2824-2829

10. 参考文献

[1] Nurick S. The natural history and the results of surgical treatment of the spinal cord disorder associated with cervical spondylosis. Brain.95(1):101-108, 1972.

[2] Ichihara K, Taguchi T, Shimada Y, Sakuramoto I, Kawano S and Kawai S. Gray matter of the bovine cervical spinal cord was mechanically more rigid and fragile than the white matter. J Neurotrauma. 18(3):361-367, 2001.

- [3] Clarke E and Robinson PK. Cervical myelopathy: A complication of cervical spondylosis. *Brain* 79(3):485-510, 1956.
- [4] Lees F and Turner JWA. Natural history and prognosis of cervical spondylosis. *Br Med J* . 2(5373):1607-1610, 1963.
- [5] Xin-Feng Li, MSc t and Li-Yang Dai. Acute central cord syndrome; Injury mechanisms and Stress Features. *Spine*. 35(19):E955-E964, 2010.
- [6] Ichihara K, Taguchi T, Sakuramoto I, Kawano S and Kawai S. Mechanism of the spinal cord injury and the cervical spondylotic myelopathy: A new approach based on the mechanical features of the white and gray matter of the spinal cord. *J Neurosurg*. 99(3 Suppl):278-285, 2003.
- [7] Lebl DR, Hughes A, Cammisa FP Jr and O'Leary PF: Cervical spondylotic myelopathy: pathophysiology, clinical presentation, and treatment. *HSS J*. 7(2):170-178, 2011.
- [8] Kaneoka K, Ono K, Inami S and Hayashi K. Motion analysis of cervical vertebrae during whiplash loading. *Spine*. 24(8):763-769, 1999.
- [9] Fujiwara K, Yonenobu K, Hiroshima K, Ebara S, Yamashita K and Ono K: Morphometry of the cervical spinal cord and its relation to pathology in cases with compression myelopathy. *Spine*. 13(11):1212-1216, 1998.
- [10] Galbraith JA, Thibault LE and Matteson DR: Mechanical and electrical responses of the squid giant axon to simple elongation. *J Biomech Eng*. 115(1):13-22, 1993.
- [11] Kato Y, Kataoka H, Ichihara K, Imajo Y, Kojima T, Kawano S, Hamanaka D, Yaji K and Taguchi T. Biomechanical study of cervical flexion myelopathy using a three-dimensional finite element method. *J Neurosurg Spine*. 8(5):436-441, 2008
- [12] Kato Y, Kanchiku T, Imajo Y, kimura K, Ichihara K, Kawano S, Hamanaka D, Yaji K and Taguchi T. Biomechanical study of the effect of degree of static compression of the spinal cord in ossification of the posterior longitudinal ligament. *J Neurosurg Spine*. 12(3):301-305, 2010
- [13] Nishida N, Kato Y, Imajo Y, Kawano S and Taguchi T. Biomechanical analysis of cervical spondylotic myelopathy: the influence of dynamic factors and morphometry of the spinal cord. *J Spinal Cord Med*. 35(4):256-261, 2012.
- [14] Nishida N, Kanchiku T, Kato Y, Imajo Y, Yoshida Y, Kawano S and Taguchi T. Biomechanical analysis of cervical myelopathy due to ossification of the posterior longitudinal ligament: Effects of posterior decompression and kyphosis following decompression. *Exp Ther Med*. 7(5):1095-9, 2014.
- [15] Nishida N, Kanchiku T, Imajo Y, Suzuki H, Yoshida Y, Kato Y, Nakajima D and Taguchi T. Stress analysis of the cervical spinal cord: Impact of the morphology of spinal cord segments on stress. *J Spinal Cord Med*. 39(3):327-334, 2016.
- [16] Nishida N, Kanchiku T, Kato Y, Imajo Y, Yoshida Y, Kawano S and Taguchi T. Cervical ossification of the posterior longitudinal ligament: factors affecting the effect of posterior decompression. *J Spinal Cord Med*. 40(1):93-99, 2017

- [17] Suri A, Chhabra RP, Mehta VS, Gaikwad S and Pandey RM. Effect of intramedullary signal changes on the surgical outcome of patients with cervical spondylotic myelopathy. *Spine J.* 3(1):33-45, 2003.
- [18] Chagas H, Dominques F, Aversa A, Vidal Fonseca AL and de Souza JM. Cervical spondylotic myelopathy: 10 years of prospective outcome analysis of anterior decompression and fusion. *Surg Neurol.* 64 S1:30-36, 2005.
- [19] Nagashima H, Morio Y, Yamashita H, Yamane K and Teshima R. Clinical features and surgical outcomes of cervical myelopathy in the elderly. *Clin Orthop Relat Res.* 444:140-145, 2006
- [20] Kameyama T, Hashizume Y, Ando T, Takahashi A, Yanagi T and Mizuno J. Spinal cord morphology and pathology in ossification of the posterior longitudinal ligament. *Brain* 118:263-278, 1995.
- [21] Nishida N, Kato Y, Imajo Y, Kawano S, Taguchi T. Biomechanical analysis of cervical spondylotic myelopathy: the influence of dynamic factors and morphometry of the spinal cord. *J Spinal Cord Med.* 35(4):256-261, 2012.