

## 以有限元素分析探討腰椎行梔子素外源性交聯處理後之運動學表現

陳又豪<sup>1</sup>, 胡明澤<sup>1</sup>, 莊仕勇<sup>2</sup>, 陳文斌<sup>1</sup>

1. 國立台北科技大學機械工程學系
2. 康寧財團法人康寧醫院骨科部

### 摘要

透過外源性交聯處理增加膠原蛋白之交聯已被提出為一治療椎間盤退化疾病的新穎療法，可以延緩或阻礙椎間盤退化之進程。在本研究團隊所執行的另外兩項實驗中，我們發現在長時間之潛變壓力負載下，外源性交聯會增加椎間盤水分流出之比例，但同時卻降低椎間盤洩壓之程度。本研究目的：1)利用單節椎間盤探討經交聯治療過後的椎間盤，由於生化組成改變，其生物力學特性影響，間接影響椎間盤雙相之承載機制2)利用完整腰椎椎體，了解單節治療對於脊椎鄰近節的力學影響。這些假設，皆需透過更細部的結構分析進行驗證，而執行有限元素分析是尋求解答的一項可用工具。在利用有限元素分析探討脊椎生物力學的研究議題中，孔洞彈性模型或黏彈性參數的設定，能模擬椎間盤與時間相關的力學特性。其中，椎間盤孔洞彈性之有限元素分析，將可以進一步探討在負載下組織固液雙相的交互作用。首先將豬隻椎間盤試片經過有或無利用退化藥劑 (trypsin) 及交聯製劑(genepin)處理分成以下組別：正常組、輕度退化組、重度退化組、輕度退化治療組及重度退化治療組，經由力學實驗取得各組材料參數，之後利用有限元素分析，代入孔洞彈性模型，模擬不同退化程度及其治療效果。結果顯示，藉由胰蛋白酶進行輕度退化可以模擬Pfirrmann等學者椎間盤退化分類等級中的第二級退化，輕度退化椎間盤承受長時間的負載，其高度變化量、液體交換率、孔洞消散率及當節活動度上升，後側環狀基質有效應力及鄰近節活動度會下降，代表椎間盤退化會降低負載能力且無法鎖住水份及養份，經Genipin治療後，其力學特性皆可以恢復至和完整組相近；重度退化組在長時間負載，相較於輕度退化組，其高度變化量與液體交換率下降，孔洞消散率與後側環狀基質有效應力上升，代表纖維環組織結構的破壞使其聚合模數上升，失去膨脹能力，增加後側纖維環破裂風險，經Genipin治療後，雖無法完全恢復其力學特性，但能修復疲勞負載造成的傷害。

關鍵字：椎間盤退化，梔子素，膠原蛋白交聯，通透性，有限元素分析

### ABSTRACT

Collagen crosslink augmentation by exogenous crosslinking is proposed as an emerging technique to treat intervertebral disc degenerative diseases. This novel therapy is anticipated to resist or delay the progression of disc degeneration. In two previously published studies using compressive creep tests of spinal motion segments, we found that exogenous crosslinking doubly increased the fluid flow out of the disc, but also diminished the degree of disc depressurization. The purposes of this research are two folds : 1) To evaluate the change of biochemical composition, the influence on the biomechanical properties, and the effects on the biphasic poroelastic properties of the intervertebral disc following genipin crosslinking treatment. 2) To explore the mechanical effects of adjacent segment after single intervertebral segment of genipin crosslinking treatment. Finite element analysis (FEA) is one of the useful tools that can serve our research purpose. In the FEA, poroelastic and viscoelastic models can simulate the time-dependent mechanical behavior of disc tissues. A poroelastic model is more helpful to understand the interaction of solid and fluid phases.

In this research, porcine disc specimens were divided into five groups either with or without treatments of trypsin and genipin: Intact group, moderate degenerative group, severe degenerative group, moderate+genipin group and severe+genipin group. The material properties of each group were obtained by mechanical tests. Then, FEA's were performed to simulate different degenerative and treated discs. The analysis results showed that injection of trypsin can mimic level II degeneration based on the Pfirmann's classification. Based on the time-dependent mechanical behavior of moderate degenerative disc, the daily disc height variation, rate of fluid loss, dissipation of pore pressure and adjacent level range of motion of L4-5 were all increased. The effective stress in the posterior annulus and the range of motion of adjacent segment were both decreased. It means that degeneration will cause reduction of stiffness and loss of nutrient-locking ability for the disc. After genipin treatment, the mechanical characteristics of the disc can be completely restored to that of the intact group. Based on the time-dependent mechanical behavior of the severe degenerative disc, the daily disc height variation and rate of fluid loss were decreased, while the dissipation of pore pressure and effective stress in the posterior annulus were increased. It means that the deteriorated annulus fibrosus will increase the aggregate modulus of disc, loss of swelling ability and significantly increase the risk of annular tear. After genipin treatment, it can not fully recover the mechanical characteristics of the disc to the original state, but it can amend the deteriorated annulus fibrosus that caused by fatigue loadings.

Keywords: Degeneration, Intervertebral disc, Genipin, Collagen crosslink, Permeability, Finite element analysis

## 一、前言

人體脊椎的主要功用為承受人體上肢的重量及提供大量的活動度，隨著全球高齡化社會的發展及長時間久坐的上班族越來越多，下背痛(low back pain, LBP)也成為骨科臨床上常見的疾病[1]。目前椎間盤退化疾病(disc degeneration disease, DDD)被提及為造成下背痛的一個重要因子，其確切病原仍是一個備受關注且值得討論的議題。

臨床上治療椎間盤退化的方式可分成保守治療及非保守治療。保守治療為一種以不破壞組織為概念的非入侵式治療方法，通常採用藥物治療或復健；當保守治療無法達到緩解疼痛或恢復受損組織的效果時，則需採用非保守治療。另一項較新穎的技術是利用再生醫學的概念，利用如基因療法、幹細胞或椎間盤細胞植入等方式促進組織新生或替代已損壞、老化的細胞。雖然這些新技術在組織學和細胞生物學等相關領域，發表了許多文獻，但是對於力學的討論卻相對不足。因此，本研究從生物力學的觀點探討退化及經交聯治療後的影響，並評估其治療效益，此課題對於未來臨床上有莫大的幫助。

## 二、文獻回顧

### 2.1 人工退化椎間盤之方式

2008年Roberts[2]等學者透過注射木瓜酵素

與胰蛋白酶，觀察牛尾巴椎間盤退變情形。首先清除軟組織並將其切成直徑1.5-2cm的節段，並使用PBS進行沖洗，接著分別注射：(1)20mg/ml的木瓜酵素(2)20mg/ml的胰蛋白酶(3)未處理組，然後置於培養基(37°C, 5%CO<sub>2</sub>)中，在第1、2和3週對其進行評估，評估的方式分成組織學、形態學及生化評估。組織學和形態學顯示，第一、二週木瓜酵素組與胰蛋白酶組的髓核組織受到破壞形成空洞，在第三週發現木瓜酵素組的破壞反應會延伸至環狀纖維；由生化組成發現，含水量並無顯著性差異，而退化組的GAG含量則低於未處理組，且木瓜酵素組的GAG含量特別低。不管是木瓜酵素與胰蛋白酶皆不會影響椎間盤四周組織，且皆能誘導GAG分解及流失，故注射木瓜酵素與胰蛋白酶皆適用於模擬人類椎間盤退化。

2008年Wang等學者[3]利用疲勞負載和休息對於椎間盤特性的影響。實驗使用豬隻椎間盤並將其分成2組進行疲勞破壞(190-590 N):短期組(0.5小時, 5 Hz, n=9)和長期組(2小時, 5 Hz, n=9)，接著休息12小時，最後再進行一次疲勞破壞。在短期組疲勞破壞中，分別在0, 10, 20, 30分鐘時給予衝擊試驗；在長期組疲勞破壞中，分別在0, 0.5, 1, 2小時時給予衝擊試驗，並計算出勁度、阻尼係數、阻尼比，並比較第一次和

第二次的動態特性。由結果顯示，經疲勞破壞的椎間盤其勁度增加，阻尼係數及阻尼比減少；12 小時的休息能夠恢復椎間盤動態特性至初始狀態，然而在長時間疲勞破壞下，第二次的疲勞破壞會使其動態特性退化更快，代表經過疲勞破壞的椎間盤亦可以藉由水合作用恢復其特性，但椎間盤卻已經受到破壞。

## 2.2 外源性交聯

2017 年 Nikkhoo 等學者[4]利用豬胸椎，以實驗及有限元素分析探討完整組、退化組及治療組的生物力學反應。實驗樣本為 24 個豬隻胸椎間盤，分成三組：完整組；退化組在第一天注射 0.5 mL 的胰蛋白酶，第二天給予椎間盤疲勞破壞 4 小時(190 N-590 N, 2.5 Hz)；治療組在第二天模擬退化後注射 Genipin 1 mL，之後將 3 組椎間盤置於自行開發之培養系統中(37°C, 95 % 溼度, 5 % 二氧化碳)7 天，每天給予 16 小時的動態負載(0.2-0.8 MPa, 0.2 Hz)及 8 小時的靜態負載(0.2 MPa)。7 日後利用拘束潛變測試量測彈性模數 E 及滲透率 k，並將一半的椎間盤量測含水量，另一半利用組織學探討退化情形。有限元素分析將環狀纖維及髓核的彈性模量、滲透率及柏松比的比例固定，孔洞壓力 0.3 MPa 以模擬膨脹現象，並給予預壓力 0-0.8 MPa 60s，接著 1 小時的無拘束潛變；為了模擬衝擊試驗，在 20 毫秒內施予 1200 N 於上終板。結果顯示，退化組椎間盤的彈性模數及最大軸向應力上升，通透性及孔洞壓力下降；治療組則呈現相反趨勢；而時間響應顯示，退化組之最大軸向應力、最大孔洞壓力及終板之最大 Von Mises 應力下降較緩慢，正常組和治療組則下降較快速且變化較大。由模擬可以證實，Genipin 交聯能有效恢復環狀纖維之完整性，進而改善其鎖水功能及髓核孔洞壓力，有助於恢復動態力學特性。

2014 年 Kirking 等學者[5]利用牛尾巴，探討 Genipin 交聯對於環狀纖維層的剪切力影響。實驗樣本為 15 組牛尾巴環狀纖維，共分成 2 組(對照組與治療組)，對照組組織浸泡 4 小時於 37°C 的 EPPS 磷酸鹽溶液；治療組組織浸泡 4 小時於 37°C 的 EPPS 磷酸鹽溶液及 Genipin 溶液之混合液，最後各自置於 40°C 的溶液中一個晚上。剪切試驗首先給予每秒 1-10 % 應變量做為預拉

力，再以每秒 2 % 的拉伸應變速率進行測試。結果發現，治療組的降伏壓力與勁度皆高於對照組，且有顯著性差異，代表 Genipin 能夠加強纖維環層與層之間的連接力以防止纖維環受到過大的剪切力而導致破壞。

## 2.3 研究目的

椎間盤組織為具孔洞彈性特性之雙相生物材料。在壓力負載期間，其力學表現為與時間相關(time-dependent)的黏彈特性，如潛變與應力鬆弛；這些黏彈特性主要與椎間盤組織內水分的傳輸引發間隙流體於固態基質重新散佈(fluid redistribution)有關，並提供椎間盤負載傳遞與能量消散之功能。在大部分的研究中，對於手術處保留之椎間盤或鄰近節之椎間盤的材料模擬，仍侷限於使用等向或非等向線彈性體，或進一步代入非線性曲線之參數為主。此種模擬方法，由於忽略椎間盤的流變性質，難以完全反應椎間盤組織受負載時的力學表現。本計畫研究目的，即 1. 透過有限元素分析，加入時間域(time domain)的影響，進一步的瞭解椎間盤組織雙相的力學特性變化 2. 藉由孔洞彈性模型探討外源性交聯治療椎間盤對於椎節之運動學以及鄰近節椎間盤力學表現的影響。

## 三、材料與方法

### 3.1 研究流程

本研究利用孔洞彈性有限元素模型，探討椎間盤退化及梔子素治療腰椎之力學響應。研究分成實驗及有限元素分析部分，1. 實驗部分：將豬隻椎間盤分成五組，正常組、輕度退化組、重度退化組、輕度退化治療組及重度退化治療組，輕度退化組為注射胰蛋白酶(0.5% EDTA, Thermo fisher Co., Taipei, Taiwan)，模擬脊椎輕度退化；重度退化組為注射胰蛋白酶並使用 MTS Model Bionix® Test System 材料實驗機(MTS Corporation, Eden Prairie, MN, USA)進行疲勞破壞，以模擬脊椎重度退化；治療組為在模擬退化之後注射交聯劑重量百分濃度為 0.33% 之梔子素(98% pure, Challenge Bioproducts Co., Taichung, ROC)，最後進行力學測試及孔隙比測試，得到材料參數，包括聚合模數(Ha)、滲透率(k)、彈性模數(E)及孔隙比(e)。有限元素分析部分，建立人體腰椎 L1-S1 及 L4-5 有限元素模型，並將

由實驗取得的五組材料參數套入有限元素模型中，各組分析會給予適當的邊界條件及負載條件，單節腰椎(L4-5)主要評估退化椎間盤及經治療之後的椎間盤的椎間高度變化量、流體交換率、髓核孔洞壓力消散率、後側環狀基質有效應力；多節腰椎(L1-S1)主要評估經梔子素治療，退化椎節及鄰近節活動度的影響，研究流程如圖 1 所示。

### 3.2 力學試驗-實驗機台

力學潛變實驗使用過去研究團隊設計之力學潛變機構，在平台上方放置標準砝碼(F1 級-不鏽鋼標準砝碼, Honder Weighing Scale, Inc., Taiwan) 給予固定力量，並搭配儀器線性位移計(HR-100, Measurement Specialties, Inc., USA)、位移計顯示錶頭(TRACKER 200, Data Track Process Instruments, Inc., UK)及 InstruNET 資料擷取系統(Instrunet i555, GW Instruments, Inc., USA)。線性位移計的功能為量測組織位移的變化量；位移計顯示錶頭能觀察實驗中的組織位移量；InstruNET 資料擷取系統能擷取實驗動態數據。

靜態拘束壓縮測試及豬隻椎間盤重度退化組使用 MTS Model Bionix®Test System 材料試驗機(MTS Corporation, Eden Prairie, MN, USA)進行模擬，其中靜態拘束壓縮測試搭配 5Kg 荷重元(JIHSENSE INDUSTRIAL COMPANY LTD., ROC)進行較精密的力量量測，力學潛變實驗及靜態壓縮測試皆會搭配 InstruNET 資料擷取系統紀錄實驗之力量-位移數值。

### 3.3 實驗治具

本研究利用 Solidworks (Solidworks Corporation, Boston, MA, U.S.A.)繪製拘束壓縮治具。水槽大小為 50 mm×40 mm×25 mm (外徑×內徑×高度)(圖 2.A)，以及封閉式中空治具，其大小為 30 mm×3 mm×15 mm(圖 2.B)，目的是為了放置孔隙率為 100  $\mu\text{m}$  之孔洞板(圖 2.D)以模擬水分進出椎體終板的生理行為，最後搭配直徑 3 mm 的圓柱探頭(圖 2.C)施壓在試片上。為了固定髓核的體積，另設計一個 3 mm×1 mm 固定髓核體積的治具。

### 3.4 退化藥劑及交聯劑製備

本研究使用胰蛋白酶 (0.25 % , Thermo Fisher Co., Grand Island, NY, USA)模擬椎間盤退化；生理食鹽水加入抗生素 0.5 % 見大

黴素 (Thermo Fisher Co., Grand Island, NY, USA)、0.5 % 兩性黴素 B (Thermo Fisher Co., Grand Island, NY, USA) 和優碘進行組織沖洗，防止組織腐壞；梔子素濃縮粉末由梔子製成的天然交聯劑，為醫學用梔子素濃縮粉末 0.33 克 (98 % pure, Challenge Bioproducts Co., Taichung, Taiwan)，加入至 99.67ml 生理食鹽水，得到重量百分濃度 0.33 % 之交聯劑。

### 3.5 豬腰椎椎間盤

本實驗使用豬隻屍體的腰椎椎間盤作為實驗樣本，並在豬隻屠宰後 6 小時內取出。首先利用手術器械去除豬隻脊椎之肌肉、韌帶等軟組織，如圖 3 所示。

### 3.6 退化椎間盤分組

本研究參考過去文獻 2013 年 Hsu 等學者[8]。將椎間盤分成五組：完整組、輕度退化組、輕度退化治療組、重度退化組及重度退化治療組，每組試片數量為 4 片(n=4)。第一天，將完整組以外的豬隻椎間盤注射 0.5mL 胰蛋白酶，裝入夾鏈袋並置於 37°C 的水浴中模擬退化。第二天，使用材料試驗機給予重度退化及重度退化治療組的椎間盤進行 4 小時的軸向壓縮疲勞破壞 (190 N-590 N, 2.5 Hz)，模擬纖維環結構的退化，並將治療組的椎間盤注射重量百分濃度 0.33 %，1mL 梔子素。第三天，靜置 24 小時，等待藥劑反應。第四天，將椎間盤切開並取出組織。

### 3.7 實驗流程-潛變測試

潛變負載條件，先給予組織 0.35 N 的預壓力 10 分鐘，接著使用標準砝碼給予 0.5 MPa 的負載(0.5MPa 是人在自然站立時椎間盤的內壓) 維持 1 小時。試驗結束後，可得到實驗關係參數：時間與位移。

本研究參考過去 1980 年 Mow[9]等學者提出之線性雙相數學模型，觀察孔洞雙相材料在固定壓縮負載下，探討流體流經組織時，組織高度變形量及時間變化的情形，並以此模型作為通透性理論，計算出聚合模數(Ha)及初始滲透率(k0)。

### 3.8 靜態壓縮測試

靜態壓縮試驗參考過去 2005 年 Périé[10]等學者的實驗條件。靜態壓縮實驗條件，先給予組織 0.1 N 的預負載 10 分鐘，目的為使組織內外達到壓力平衡狀態，並確

認圓柱探頭確實和組織接觸，接著使用位移控制，速率為 0.001 mm/s，直到 0.2 mm (20 % 應變量)。試驗結束後，可得到實驗關係參數：力量與位移，並透過(公式 1)計算 E 值及(公式 2)計算普松比。其中，F 為施加於探頭上方之力量；A 為組織面積； $\delta$  為組織高度變形量；L 為組織變形前高度， $\nu$  為組織普松比。

壓縮模數計算公式 1：

$$E=(F/A)/(\delta/L)$$

普松比計算公式 2：

$$Ha = E(1-\nu) / [(1+\nu) \times (1-2 \times \nu)]$$

### 3.9 孔隙比測試

實驗步驟參考過去 2005 年 Silva 等學者量測組織孔隙比的方式[11]，以電子分析天平(AS/CI, Radwag, Inc., Poland)量測各組組織的濕重量(Wwet)及脫水後的乾重量(Wdry)，透過(公式 4)計算組織孔隙比。組織脫水使用熱風循環烘箱(DO60, Deng Yng, Inc., Taiwan)以攝氏 45°C 烘乾 72 小時，使組織完全乾燥。其中，Vf 為液體體積； $\rho_f$  為液體密度；Vs 為組織固體體積；VT 為組織總體積(Vf + Vs)；mf 為液體質量((Wwet - Wdry) /  $\rho_f$ )。

初始孔隙比計算公式：

$$e_0 = V_f / V_s = (m_f / \rho_f) / (V_T - V_f)$$

### 3.10 通透性參數計算

本研究參考 1996 年 Argoubi 與 Shirazi-Adl 學者[12]提出的孔隙比與滲透率之關係式，並將由實驗取得之參數，初始滲透率(k0)和初始孔隙比(e0)代入此一非線性公式，得到隨孔隙比變化的滲透率(k)。其中 M 為實驗參數，將潛變實驗的結果和有限元素分析的結果曲線進行曲線擬合(Curve Fitting)，求得實驗參數。

### 3.11 有限元素分析-腰椎模型建立

本研究腰椎有限元素模型，取自於美國國立醫學圖書館(National Library of Medicine, NLM)，55 歲男性人體橫斷面電腦斷層掃描影像(Computerized Tomography, CT)。第一步，將所擷取的 CT 影像匯入影像處理軟體，進行椎體輪廓的圈選；第二步，匯入 Solidworks (Solidworks corporation, Boston, MA, USA)將脊椎分成前骨及後骨

元素，並繪製椎間盤的輪廓線；第三步，參照過去 2013 年 Jin 等學者[13]的設定，使用 Hyper Works (AltairEngineering, Inc., Troy, MI)建立椎間盤。脊椎實體網格如圖 4(A)及(B)所示。

### 3.12 材料參數設定

本篇研究使用 Abaqus/CAE (SIMULIA, Providence, RI, USA)進行材料參數設定及有限元素分析。材料性質皆給予均質等向性(homogenous and isotropic)與線彈性(linear elastic)材料[14][15]，為了模擬腰椎內液體的流動情形，將海綿骨、髓核、環狀基質及終板額外給予孔隙彈性特性，以表現固液交換的力學行為。韌帶設為非線性的二節點之線(wire)元素，並參照過去文獻之實驗曲線[16][17]，將此實驗結果之力量-位移曲線代入模型，進行分析。材料參數如表 1 所示。

### 3.13 邊界條件及負載條件

本研究參考 2011 年 Galbusera 學者[15]之時間響應邊界條件。總分析時間為 72 小時，分成 5 個階段：(1)無負載狀態維持 24 小時，使椎間盤內部孔壓與邊界孔壓達到平衡(2)壓縮負荷 500 N 維持 16 小時，模擬白晝人體腰椎承受負載之力量(3)壓縮負荷 200 N 維持 8 小時，模擬夜間人體腰椎卸載之力量(4)壓縮負荷 500 N 維持 16 小時(5)壓縮負荷 200 N 維持 8 小時。由於從白晝到黑夜壓力的轉變，使得椎間盤膨脹產生滲透勢(osmotic potential)，在分析上，會給予 0.25 MPa 的初始孔洞壓來模擬此壓力[18]。活動元在活動時，小面關節會產生摩擦，將小面關節接觸面間的摩擦力設定為 0.1。上述軸向負載皆施力於 L4 上端，並固定 L5 下方所有方向之活動度(DOF=0)。

本研究針對最容易發生退化的椎節 L4-5 進行退化及治療，並採用活動度(range of motion)作為評估治療效果對於脊椎運動學的影響。其將 S1 椎體進行拘束(DOF=0)，限制其所有方向之活動度，並給予脊椎 500 N 的跟隨力(follower load)，模擬肌肉產生的力量。接著給予 L1 上方的鋼板 7.5 Nm 之扭矩運動負載，運動方向為前屈(flexion)和後彎(extension)，並記錄其活動度。

### 3.14 模型驗證

與過去 1992 年 Asano 等學者[35]的單節腰椎實驗進行比對。將 L5 下方固定各方向之活動度，利用位移控制，條件為 0.3

mm/s，進行壓縮及拉伸，負載行程為 1.5 mm，實驗結果將比對力量-位移曲線及在位移量 1.5 mm 時的反作用力；多節腰椎模型和過去 2001 年 Rohlmann 等學者[19]的體外實驗進行活動度的比較，以驗證多節腰椎模型，有限元素分析的邊界條件及負載條件將模擬體外實驗的邊界條件及負載條件。

### 3.15 力學參數分析

單節腰椎活動元模型在晝夜卸載及負載的交替之下，觀察椎間盤模型之高度變化量、椎間盤流體交換率、髓核孔洞壓力消散率、後側環狀纖維基質有效應力及應變，此分析主要觀察第二次晝夜穩態階段(48~72 小時)。「椎間盤高度變化」主要觀察晝夜的椎間盤高度損失量。「椎間盤流體交換率」為觀察椎間盤內液體進出的情形，並以晝夜椎間盤液體損失百分比定義。「髓核孔洞壓力消散率」藉由髓核壓力在晝夜承受持續負載的變化，評估髓核內液相的應力變化，髓核孔洞消散率(MPa/hr)=[初始髓核應力-最後負載髓核應力(1+5%)]/經歷的時間，其中穩態階段定義為晝夜結束時應力值的 5%。「後側環狀纖維基質有效應力及應變」可用來評估晝夜高壓負載對於椎間盤後側破壞之風險。

多節腰椎模型主要藉由活動度探討外源性交聯治療對於鄰近節椎間盤之影響，故觀察各椎節之活動度。

## 四、結果

### 4.1 有限元素模型驗證-單節活動元

本研究單節腰椎有限元素模型驗證對照 Asano 等學者[35]於 1992 年人體體外試驗之結果，驗證單節 L4-5 腰椎有限元素模型。結果顯示，本篇單節腰椎有限元素分析結果與人體體外測試數據，在一樣的負載條件之下，表現出相同的高度變化趨勢，如圖 5 所示。

### 4.2 多節腰椎

本研究完整腰椎模型驗證對照 Rohlmann 等學者[19]於 2001 年體外測試結果，負載條件皆給予 7.5 Nm 的彎矩，由分析結果顯示，本篇多節腰椎活動度與體外測試結果相近，證明此模型可表現出真實椎體之力學特性，如圖 6 所示。

### 4.3 人工退化椎間盤之影響-椎間盤高度變化量

在前 24 小時之無負載階段，椎間盤會吸收水分而膨脹，造成其高度上升，直到內外壓力平衡為止。在晝夜交替之下，椎間盤在不同退化組別的高度變化呈現一致的趨勢：在白天負載階段(500 N, 24~40 小時)，椎間盤高度會隨著負載增加而下降；在晝夜卸載階段(200 N, 40~48 小時)，椎間盤高度隨著負載減少而上升。完整組(Intact, I)、輕度退化組(Mild, M)與重度退化組(Severe, S)之椎間盤高度變化。

椎間盤高度變化量主要觀察第二次晝夜交替(48~72 小時)的高度變化。由結果得知，正常組具有最低的高度變化量；在退化的組別中，輕度退化組比重度退化組有更大之高度變化量，但是各組椎間盤在 8 小時的休息過後皆能恢復椎間盤之高度，如表 2 所示。

### 4.4 椎間盤液體交換率

模擬不同退化等級的椎間盤，觀察在第二個晝夜穩態階段(48~72 小時)，椎間盤內的流體變化情形。由結果得知，輕度退化組(M)有最高的液體交換率，重度退化組(S)之液體交換率大於完整組(I)。如**錯誤！找不到參照來源**。所示

### 4.5 髓核孔洞壓力消散率

在無負載階段(0~24 小時)，髓核會吸水膨脹，直到椎間盤邊界孔洞壓力和髓核孔洞壓力達到平衡。第二階段到第五階段，完整組(I)、輕度退化組(M)與重度退化組(S)的椎間盤都呈現相同趨勢。此外，由表 4 可得知，隨椎間盤退化等級增加，核孔洞壓力消散率皆有上升趨勢。

### 4.6 後側環狀基質有效應力

在無負載階段(0~24 小時)，椎間盤吸水膨脹使環狀基質承受張應力(正值)；在白晝負載階段，椎間盤受到壓縮負載而使環狀基質承受壓應力；在夜晚階段，受到的壓力減少，椎間盤吸水膨脹使得環狀基質有效應力成拉應力。

觀察第二個晝夜結束時，環狀基質的應力變化。輕度退化組(M)的應力會小於完整組(I)；重度退化組(S)的有效應力則會高於其他組，如表 5 所示。

### 4.7 活動度-前屈-後彎負載

在 7.5 Nm 的彎矩下，觀察前屈-後彎方向上，不同退化程度的活動度，如圖 7

及所示。其中輕度退化組(M)和正常組(I)相比，退化當節(L4-5)活動度增加8.1%，上下鄰近節(L34及L5S)活動度則有輕微下降的趨勢；重度退化組(S)和輕度退化組(M)相比，退化當節活動度下降6.3%，鄰近節活動度則會無明顯差異。

#### 4.8側向彎曲負載

在7.5 Nm的彎矩下，觀察側向彎曲方向上，不同退化等級的活動度，如圖 8側向彎曲時，退化組活動度及表 3.6所示。其中輕度退化組(M)和正常組(I)相比，退化當節(L45)活動度增加18.3%，鄰近節活動度則輕微下降；重度退化組(S)和輕度退化組(M)相比，退化當節活動度下降11.5%，上下鄰近節活動度則會上升(0.9%及0.5%)。

#### 4.9扭轉負載

在7.5 Nm的彎矩下，觀察扭轉方向上，不同退化等級的活動度，如圖 9所示。其中輕度退化組(M)和正常組(I)相比，退化當節(L4-5)活動度增加43.5%，鄰近節活動度則上升4.5%；重度退化組(S)和輕度退化組(M)相比，退化當節活動度下降21.2%，上鄰近節活動度則會上升4.6%。

#### 4.10交聯治療的影響-椎間盤高度變化量

觀察第二個晝夜交替(48~72小時)椎間盤的高度變化，由結果得知，治療組(Genipin)的高度變化量皆會高於完整組。其中，輕度退化組(Mild, M)和重度退化組(Severe, S)經過治療後，輕度退化治療組(Mild+Genipin, MG)高度變化會更接近正常組(Intact, I)，而重度退化組經治療後，其高度變化量則有上升趨勢。退化及治療組比較結果如表 6所示。

#### 4.11椎間盤液體交換率

由結果得知，完整組(Intact, I)的液體交換率皆會低於治療組(Genipin)。其中，輕度退化治療組(Mild+Genipin, MG)和輕度退化組相較之下，其液體交換率較低，且更接近完整組；重度退化組經治療後(Severe+Genipin, SG)，其液體交換率則會增加。退化及治療組比較結果如表 7所示。

#### 4.12髓核孔洞壓力消散率

由結果得知，輕度退化組(Mild, M)和重度退化組(Severe, S)經過治療後，在經過治療之後液體交換率皆有下降的趨勢。其

中，輕度退化治療組的液體交換率較接近完整組。退化及治療組比較結果如表 8所示。

#### 4.13後側環狀基質有效應力

輕度退化組的椎間盤經治療，環狀基質應力會上升，並恢復至和完整組相當；重度退化椎間盤經治療之後，能夠降低其應力。退化組和治療組比較結果如表 9所示。

#### 4.14活動度-前屈-後彎負載

輕度退化組和治療組結果如圖 10所示。由結果得知，在前屈後彎方向上，經過治療的椎間盤和退化組相比，治療節(L4-5)活動度下降7.7%，與正常組相差0.2%，其鄰近節活動度亦能恢復至完整組相當。

重度退化組和治療組結果如圖 11所示。經過治療的椎間盤和退化組相比，治療節活動度增加7.2%，與正常組相差8.5%，無法得到治療效果，鄰近節活動度則輕微下降約0.6%。

#### 4.15側向彎曲負載

輕度退化組和治療組結果如圖 12所示。由結果得知，在前側向彎曲方向上，治療組和退化組相比，治療節(L4-5)活動度下降15.9%，恢復至與正常組相差0.5%，其鄰近節活動度無顯著性差異。

重度退化組和治療組結果如圖 13所示。治療組和退化組相比，治療節活動度增加13.4%，與正常組相差18.7%，無法得到治療效果，鄰近節活動度則下降約1%。

#### 4.16扭轉負載

輕度退化組和治療組結果如圖4所示。由結果得知，在扭轉方向上，治療組和退化組相比，治療節(L4-5)活動度下降32.3%，恢復至與正常組相差2.8%；其上鄰近節活動度增加7.4%，可恢復至與正常組相差0.4%；下鄰近節則無顯著性差異。

重度退化組和治療組結果如圖 15所示。經過治療組和退化組相比，治療節活動度下降1.7%，與正常組相差11.1%，可得輕微治療效果，其鄰近節活動度則無顯著性差異。

## 五、討論

本研究目的為利用有限元素分析探討梔子素對於脊椎退化的修復效果。過去研究對於組織治療效果的探討，多半利用化學及細胞學的方式去判斷，鮮少討論組織之力學



特性。本研究透過有限元素模擬，將退化及經治療的椎間盤材料參數代入能表現固液兩相耦合之孔洞彈性腰椎模型中，評估不同退化等級活動元及其治療效果，以及經單節治療之脊椎，對於鄰近節的力學影響。單節腰椎評估的項目包括椎間盤高度變化量、液體交換率、髓核孔洞壓力消散率和後側環狀基質有效應力；多節腰椎評估項目為活動度。

### 5.1 椎間盤高度變化量

本研究在模擬日夜的負載下發現，輕度退化的椎間盤，其椎間盤高度變化量增加 54.4 %；重度退化之椎間盤，其高度變化量會下降 21.9 % (如圖 22)，與過去本團隊人體體外實驗結果有相同趨勢。由於胰蛋白酶會破壞蛋白多醣和使細胞外基質變得鬆弛 [8]，故初期退化的椎間盤會降低承受負載之能力，而經過疲勞破壞的環狀基質，其楊氏係數上升，失去膨脹的能力。

由治療組發現，經過 Genipin 交聯過後，輕度治療組之椎間盤高度變化量恢復至與完整組相當，重度治療組織椎間盤高度變化量可恢復至與輕度退化等級相當，如圖 4.1 所示。從材料參數可知，輕度退化組之環狀纖維經外源交聯後，組織楊氏係數上升並恢復椎間盤抵抗外力之能力，重度退化組之環狀纖維經外源交聯後，其楊氏係數下降，其組織雖無法完全恢復其力學性質，但能改善纖維環經疲勞破壞造成的影響。

### 5.2 椎間盤液體交換率

在實驗上，難以量測椎間盤的液體流動，故藉有限元素分析的方式模擬椎間盤在體內的液體交換情形，並探討交聯對於椎間盤之影響。觀察第二個晝夜的結果，輕度退化椎間盤的液體交換率上升 45.67 %；重度退化椎間盤的流體交換率下降 25.29 %。Emanuel 等學者 [20] 發現輕度脊椎退化會流失 GAG，導致液體減少鎖水及液體流動的能力，而影響液體交換率；Massey 等學者 [21] 發現液體交換率會隨著椎間盤退化程度的增加，而降低其液體交換率，學者推論主要與椎間盤退化後含水量減少相關，本研究結果亦有相同趨勢。

經過 Genipin 交聯後，輕度退化組的液體交換率下降，改善其鎖住養分等物質之能力，結果與過去本團隊人體體外實驗結果趨勢一致；重度退化組經治療過後液體交換率

上升可恢復至與輕度退化等級相當。重度治療組的液體交換率高於重度退化組，原因可能與退化治療組椎間盤的變形量較大有關，若能提高退化椎間盤之液體交換率，或許能進一步改善椎間盤內營養物質的供應。

### 5.3 髓核孔洞壓力消散率

椎間盤在加載期間，壓縮負載增加導致椎間盤內部壓力上升、髓核孔洞壓力上升，將內部水分擠出；卸載時，椎間盤內壓下降、髓核孔洞壓力與膨脹壓力下降，藉由椎間盤內外壓力梯度差將水吸回椎間盤中，1988 年 Urban 與 McMullin 學者提出此膨脹壓力為蛋白多醣產生水合作用時所產生 [22]。由退化組發現，孔洞壓力消散率會隨著椎間盤退化的程度增加而提升，過去文獻提到，隨著椎間盤的退化，滲透率的增加會提高流體進出椎間盤的速率，本研究的分析結果與過去研究有相同趨勢 [14]。

經過 Genipin 交聯後，輕度退化組與重度退化組皆能恢復組織之通透性，提升組織抗壓縮之能力，使不同退化等級椎間盤之髓核孔洞消散率獲得改善，並有效地提升液體進出椎間盤的阻力，增加間盤緩衝負載的能力。

### 5.4 後側環狀基質有效應力

椎間盤退化時其力學承載機制的轉變，由纖維環承受大部分的負載，其中後側環纖維環比前側更脆弱 [23]，產生更高的應力 [24]，過去亦有諸多研究提出由於環狀纖維的高應力導致的疾病，因此藉由孔洞彈性有限元素分析，觀察後側環狀基質有效應力以評估環纖維環結構受力情況。由結果發現，輕度退化組的後側環狀基質有效應力低於正常組，重度退化組則有較高的後側環狀基質有效應力。根據材料參數得知，環狀基質經胰蛋白酶破壞導致組織鬆弛，降低其應力及負載能力；而經疲勞破壞的環狀基質，聚合模數上升，使得環狀基質的應力上升，提高環狀纖維破裂之風險。

由治療組得知，經 Genipin 交聯後，輕度治療組組織楊氏模數提升，使後側環狀基質有效應力上升，以提供較大的應力以抵抗外力；重度治療組組織的後側環狀基質有效應力下降，以改善疲勞破壞對纖維環的傷害，降低環狀基質破裂的風險。

### 5.5 活動度



本研究利用人工退化的方式模擬不同退化等級的椎間盤。過去文獻中提到，注射胰蛋白酶降低椎間盤組織壓縮模數，此退化趨勢與人體脊椎第二級退化相當，再經疲勞破壞使椎間盤組織通透性下降，此趨勢與人體脊椎第三級至第五級退化相當。1981年 Kirkaldy-Willis 和 Farfan 學者[25]將椎間盤的退化分成三個階段，1.短暫機能失調 2.不穩定期 3.穩定期，不穩定期相當人體第二級退化，穩定期相當人體第三級至第五級退化。椎間盤組織在不穩定期會喪失原有的勁度使活動度上升，易造成診斷上的失誤；在穩定期的椎間盤組織逐漸流失蛋白多醣及水分，提升勁度，在活動度上有明顯的下降趨勢。

腰椎單節(L45)退化及鄰近節之分析結果。由分析結果得知，輕度退化椎間盤在前屈後彎、側彎及軸向旋轉方向上的活動度，分別上升 8.1%、18.3%、43.5%，重度退化椎間盤輕度退化椎間盤在前屈後彎、側彎及軸向旋轉方向上的活動度，分別下降 6.3%、11.5%、21.2%。過去 Lao 等學者[26]使用 MRI 觀察不同退化椎節前屈後彎的活動度，結果發現 L45 在第二級(輕度)退化時，活動度會增加，在四、五級(重度)退化時，活動度則會減少，此趨勢與本研究結果趨勢相同。此外，Ibarz 等學者[27]採用有限元素分析法，發現輕度退化的椎間盤對於脊椎的活動度在三個運動方向上皆有上升之趨勢，退化趨勢亦與本研究結果相當，證明以人工退化方式模擬退化的可行性。

由退化組發現，脊椎單節退化會強迫椎節的受力方式改變而影響到脊椎退化當節及鄰近節的活動度分布，進而導致脊椎進一步的退化。因此，希望利用注射梔子素的方式改善組織退化的情形。腰椎單節(L45)治療及鄰近節之分析結果，輕度治療組與退化組相比，在前屈後彎、側彎及旋轉方向上，分別下降 7.7%、15.9%、32.3%，經治療過後可恢復至與正常組活動度分別相差 0.2%、0.5%、2.8%；重度治療組與退化組相比，在前屈後彎、側彎及旋轉方向上，分別上升 7.2%、13.4%、1.7%，經治療過後與正常組活動度相比，分別上升 8.5%、18.7%、11.1%。結果發現，輕度退化椎間盤經 Genipin 交聯後，退化椎節及鄰近節活動度有顯著性的改善，而重度退化椎間

盤組織經 Genipin 交聯後活動度則能回復至與輕度退化組相當。從實驗材料參數得知，輕度和重度退化的髓核組織及輕度退化的環狀纖維組織經 Genipin 作用後，皆能回復其壓縮模數，過去學者利用豬隻屍體，探討 Genipin 的治療效果，結果從組織學發現 Genipin 能使排列混亂的組織排列整齊且與正常組相似，並有效恢復其彈性模數、滲透性及液體交換率[28]。重度退化的環狀纖維組織在交聯過後楊式模數下降至與輕度組相當，原因可能是培養的時間不足，雖有輕微恢復的趨勢，但無法完全恢復至與完整組相當之力學特性。

## 5.6 研究限制

首先，本研究在分析上使用豬隻材料參數代入人體脊椎模型內探討其力學特性，而非使用人體材料參數。由於人體個體性差異性較大，須取得大量屍體骨組織進行實驗以提高準確度，但大量人體屍體骨取得不易，故以豬隻腰椎取代。過去已有多篇文獻探討論豬隻和人類腰椎的相似處，例如：韌帶結構[29]、脊椎活動度[30]、骨頭結構。本篇亦對豬隻及人體腰椎進行比較，由材料參數結果得知，豬隻組織之楊氏係數、普松比及初始孔隙比皆接近人體腰椎，而豬隻初始孔隙比大於人體參數，材料參數如表 10 及表 11 所示。本篇研究主要觀察在長時間作用下，Genipin 治療對於椎間盤力學行為的影響，發現使用豬隻椎間盤材料參數的脊椎活動度與人類屍體體外試驗的結果一致，但豬隻材料參數無法完全模擬人體椎間盤之潛變性質，故只能將結果數值化藉此評估 Genipin 對於退化脊椎之治療效果。

本篇實驗步驟參考 2013 年 Hsu 等學者[8]模擬退化時使用的藥劑以及方式，但並未使用培養系統模擬其生理環境及降低外在變因，為了避免屍體組織在培養期間發生腐壞或變質的情況，故將培養的時間上從八天縮短到四天。和 2013 年 Hsu 等學者的結果相比，輕度椎間盤的退化組與治療組趨勢與其結果一致；重度退化的趨勢亦與其趨勢一致，但治療組卻有相反的趨勢，推測此結果可能是因為培養時間不足，導致無法完全恢復疲勞壓縮破壞造成的影響。

在有限元素模型設定上，環狀基質使用等向性(Isotropic)材料，環狀纖維使用鋼纜(Rebar)元素。2015 年 Mengoni 等學者[31]

以實驗及有限元素分析探討各層環狀基質間的力學特性，發現環狀基質層間的剪切及壓縮勁度皆高於環狀基質。本研究模型直接以應力值評估椎體受外力時，椎間盤發生破壞的可能性，並未考慮到基質層之間連接力，故本研究的基質應力值會比真實情況更小。

為了模擬日常生活中對於不同運動對於腰椎之負載，本篇文獻參考 Galbusera 等學者[15]有限元素分析之設定：白天負載 500 N 與晚上負載 200 N。但是 500 N 僅僅是站立時腰椎承受之力量[32]，2009 年 Arjmand 等學者[33]提出，中等日常活動，例如：起立坐下或用手提起較輕的物品，皆會使脊椎壓力上升至 1000 N。2010 年 Schmidt 等學者[34]有限元素分析研究使用 350 N 模擬夜間負載，1000 N 及 1600 N 模擬白天日常動態之負載。本研究主要目的為模擬椎間盤治療之效果，故給予站立時的壓力足以探討其力學性質，後續研究若能取得足夠數量之人體腰椎退化組織，並使用中等日常活動之負載，可以更準確的了解 Genipin 交聯對於人體的治療效果。

## 六、結論

對於梔子素交聯治療的評估，過去學者多以細胞學及單節椎間盤生物力學當作判斷治療效果的方法，還未有學者探討單節椎間盤隨時間之力學響應及單節治療對於治療椎節及鄰近節的影響。故本研究使用豬隻椎間盤作為實驗樣本，將其分成五組，(1)完整組 (2)輕度退化組 (3)輕度退化經治療組 (4)重度退化 (5)重度退化經治療組，並建立單節及多節有限元素模型，探討單節腰椎隨時間變化之力學響應及多節腰椎活動度。

1. 以胰蛋白酶及軸向壓縮破壞能有效模擬脊椎不同等級的退化

(a)輕度退化椎間盤，其力學特性改變包括高度變化量、液體交換率、髓核孔洞消散率、活動度上升，後側環狀基質有效應力下降

(b)重度退化椎間盤，其力學特性改變包括高度變化率、液體交換率、活動度下降，髓核孔洞消散率、後側環狀基質有效應力上升。

2. Genipin 交聯治療後的影響

(a)輕度退化組組織經 Genipin 交聯後，其壓縮模數上升，使椎間盤高度變化量

及活動度減少、後側環狀基質有效應力上升；組織通透性下降，使椎間盤液體交換率、髓核孔洞壓力消散率下降。

(b)重度退化組經 Genipin 交聯後，纖維環壓縮模數下降，使椎間盤高度變化量及活動度上升、後側環狀基質有效應力降低；組織通透性下降，使椎間盤液體交換率上升、髓核孔洞壓力消散率下降。

3. 輕度退化椎間盤經過 Genipin 治療後，其生物力學特性有明顯恢復的現象，且接近正常組；重度退化椎間盤經過 Genipin 治療後，雖無法完全恢復其力學特性，但亦能恢復至和輕度退化組相當。代表 Genipin 能有效治療輕度退化椎間盤，且能給予重度退化椎間盤一定的治療效果。

## 七、參考文獻

- [1] Buckwalter, "Aging and degeneration of the human intervertebral disc," *Spine (Phila Pa 1976)*, vol. 20, 1995, pp. 1307-1314.
- [2] S. Roberts, J. Menage, S. Sivan, J. P. Urban, "Bovine explant model of degeneration of the intervertebral disc.," *BMC Musculoskelet Disord*, vol. 9, 2008.
- [3] J. L. Wang, T. K. Wu, T. C. Lin, C. H. Cheng, S. C. Huang, "Rest Cannot Always Recover the Dynamic Properties of Fatigue-Loaded Intervertebral Disc," *Spine (Phila Pa 1976)*, vol. 33, 2008, pp. 1863-1869.
- [4] M. Nikkhoo, J. L. Wang, M. Parnianpour, M. EI-Rich, K. Khalaf, "Biomechanical response of intact, degenerated and repaired intervertebral discs under impact loading - Ex-vivo and In-Silico investigation," *Journal of Biomechanics*, vol. 70, 2014, pp. 26-30.
- [5] B. Kirking, T. Hedman, J. Criscione, "Changes in the interfacial shear resistance of disc annulus fibrosus from genipin crosslinking," *Journal of Biomechanics*, vol. 47, 2013, pp. 293-296.
- [6] M. Nikkhoo, K. Khalaf, Y. W. Kuo, Y. C. Hsu, M. Haghpanahi, M. Parnianpour, J. L. Wang, "Effect of Degeneration on Fluid-Solid Interaction within Intervertebral Disk Under Cyclic Loading - A Meta-Model Analysis of Finite Element Simulations," *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 3,

- 2015.
- [7] H. Schmidt, A. Shirazi-Adl, F. Galbusera, H. J. Wilke, "Response analysis of the lumbar spine during regular daily activities--a finite element analysis," *Journal of Biomechanics*, vol. 43, 2010, pp.1849-1856.
- [8] Y. C. Hsu, Y. W. Kuo, Y. C. Chang, M. Nikkhoo, J. L. Wang, "Rheological and dynamic integrity of simulated degenerated disc and consequences after cross-linker augmentation," *Spine (Phila Pa 1976)*, vol. 38, 2013, pp. 1446-1453.
- [9] V. C. Mow, S. C. Kuei, W. M. Lai, C. G. Armstrong, "Biphasic creep and stress relaxation of articular cartilage in compression? Theory and experiment," vol. 102, 1980, pp. 73-84.
- [10] D. Périé, D. Korda, J. C. Iatridis, "Confined compression experiments on bovine nucleus pulposus and annulus fibrosus: sensitivity of the experiment in the determination of compressive modulus and hydraulic permeability," *Journal of Biomechanics*, vol. 38, 2005, pp. 2164-2171.
- [11] P. Silva, S. Crozier, M. Veidt, M. J. Percy, "An experimental and finite element poroelastic creep response analysis of an intervertebral hydrogel disc model in axial compression," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 16, 2005, pp. 633-639.
- [12] M. Argoubi and A. Shirazi-Adl, "Poroelastic creep response analysis of a lumbar motion segment in compression," *Journal of Biomechanics*, vol. 29, 1996, pp. 1331-1339.
- [13] Y. J. Jin, Y. E. Kim, J. H. Seo, H. W. Choi, T. A. Jahng, "Effects of rod stiffness and fusion mass on the adjacent segments after floating mono-segmental fusion: a study using finite element analysis," *European Spine Journal*, vol. 22, 2013, pp. 1066-1077.
- [14] A. Chagnon, C. E. Aubin, I. Villemure, "Biomechanical influence of disk properties on the load transfer of healthy and degenerated disks using a poroelastic finite element model," *Journal of Biomechanical Engineering*, vol. 132, 2010, pp. 111006.
- [15] F. Galbusera, H. Schmidt, C. Neidlinger-Wilke, H. J. Wilke, "The effect of degenerative morphological changes of the intervertebral disc on the lumbar spine biomechanics: a poroelastic finite element investigation," *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, vol. 14, 2011, pp. 729-739.
- [16] T. H. Pingel, "Mitteilungen aus dem institut für mechanic," 1991.
- [17] A. Shirazi-Adl, A. M. Ahmed, S. C. Shrivastava, "Mechanical response of a lumbar motion segment in axial torque alone and combined with compression," *Spine (Phila Pa 1976)*, vol. 11, 1986, pp. 914-927.
- [18] H. Schmidt, F. Galbusera, H. J. Eilke, A. Shirazi-Adl, "Remedy for fictive negative pressures in biphasic finite element models of the intervertebral disc during unloading," *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, vol. 14, 2011, pp. 293-303.
- [19] A. Rohlmann, S. Neller, L. Claes, G. Bergmann, H. J. Wilke, "Influence of a follower load on intradiscal pressure and intersegmental rotation of the lumbar spine," *Spine (Phila Pa 1976)*, vol. 26, 2001, pp. E557-561.
- [20] K. S. Emanuel, P-P. A. Vergroesen, M. Peeters, R. M. Holewijn, I. Kingma, T.H. Smit, "Poroelastic behaviour of the degenerating human intervertebral disc: a ten-day study in a loaded disc culture system," *European Cells & Materials*, vol. 29, pp. 330-340.
- [21] C. J. Massey, C. C. van Donkelaar, E. Vresilovic, A. Zavaliangos, and M. Marcolongo, "Effects of aging and degeneration on the human intervertebral disc during the diurnal cycle: a finite element study," *Journal of Orthopaedic Reserch*, vol. 30, 2012, pp. 122-128.
- [22] J. P. Urban, J. F. McMullin, "Swelling pressure of the lumbar intervertebral discs: influence of age, spinal level, composition, and degeneration," *Spine (Phila Pa 1976)*, vol. 13, 1988, pp. 179-187.
- [23] H. Tsuji, N. Hirano, H. Ohshima, H. Ishihara, N. Terahata, T. Motoe, "Structural variation of the anterior and posterior anulus fibrosus in the development of human lumbar intervertebral disc. A risk factor for intervertebral disc rupture,"

Spine (Phila Pa 1976), vol. 18, 1993, pp. 204-210.

[24] C. Gloria, G. Fabio, J. René, S. Benedikt, W. Hans-Joachim, V. Tomaso, "A novel finite element model of the ovine lumbar intervertebral disc with anisotropic hyperelastic material properties" PLOS, vol. 12, 2017, e0177088.

[25] W. H. Kirkaldy-Willis, H. F. Farfan, "Instability of the lumbar spine. "Clinical Orthopaedics and Related Research, vol. 165, 1982, pp. 110-123.

[26] L. Lao, M. D. Daubs, T. P. Scott, E. L. Lord, J. R. Cohen, R. Yin, G. Zhong, J. C. Wang, "Effect of disc degeneration on lumbar segmental mobility analyzed by kinetic magnetic resonance imaging," Spine (Phila Pa 1976), vol. 40, 2015, pp. 316-322.

[27] E. Ibarz, A. Herrera, Y. Más, J. Rodríguez-Vela, J. Cegoñino, S. Puértolas, L. Gracia, "Development and kinematic verification of a finite element model for the lumbar spine: application to disc degeneration, "BioMed Research International, 2013, 750185.

[28] M. Nikkhoo, J. L. Wang, M. Abdollahi, Y. C. Hsu, M. Parnianpour, and K. Khalaf, "A regenerative approach towards recovering the mechanical properties of degenerated intervertebral discs: Genipin and platelet-rich plasma therapies," J Engineering in Medicine, pp. 1-11, 2016.

[29] K. A. Gillespie, J. P. Dickey, "Biomechanical role of lumbar spine ligaments in flexion and extension: determination using a parallel linkage robot and a porcine model," Spine (Phila Pa 1976), vol. 29, 2004, 1208-1216.

[30] J. C. Beckstein, S. Sen, T. P. Schaer, E. J. Vresilovic, D. M. Elliott, "Comparison of animal discs used in disc research to human lumbar disc: axial compression mechanics and glycosaminoglycan content," Spine (Phila Pa 1976), vol. 33, 2008, pp. E166-73.

[31] M. Marlène, J. L. Bethany, N. W. Vithanage, C. J. Alison, D. B. Neil, K. W. Ruth, "Derivation of inter-lamellar behaviour of the intervertebral disc annulus, "Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, vol. 48, 2015, pp. 164-172.

[32] A. Rohlmann, T. Zander, M. Rao, G. Bergmann, "Applying a follower load delivers realistic results for simulating standing," Journal of Biomechanics, vol. 42, 2009, pp. 1520-1526.

[33] N. Arjmand, D. Gagnon, A. Plamondon, A. Shirazi-Adl, C. Larivière, "Comparison of trunk muscle forces and spinal loads estimated by two biomechanical models," Clinical Biomechanics, vol. 24, 2009, pp. 533-541.

[34] H. Schmidt, A. Shirazi-Adi, F. Galbusear, H. J. Wilke, "Response analysis of the lumbar spine during regular daily activities--a finite element analysis," Journal of Biomechanics, vol. 43, 2010, pp. 1849-1856.

[35] S. Asano, K. Kaneda, S. Umehara, S. Tadano, "The mechanical properties of the human L4-5 functional spinal unit during cyclic loading. The structural effects of the posterior elements. Spine (Phila Pa 1976), vol. 17, 1992, pp. 1343-1352.

八、表格

	Young's modulus (MPa)	Poisson's ratio $\nu$	Initial permeability $k_0$ ( $10^{-12}m^3/Ns$ )	Initial void ratio $e_0$	M
Nucleus pulposus	(Intact)1.58	0.17	5.43	3.80	6.5
	(Mild)0.67	0.19	23.77	3.92	7.5
	(Mild+Genipin)1.70	0.14	5.7	2.40	12
	(Severe)0.84	0.11	69.80	5.20	6.5
	(Severe+Genipin)1.57	0.06	11.20	3.26	6
	(Intact)3.49	0.26	2.67	2.63	12
Annulus ground substance	(Mild)2.15	0.25	2.25	4.10	10
	(Mild+Genipin)3.55	0.25	1.26	2.04	8
	(Severe)3.2	0.27	1.87	4.58	8
(Severe+Genipin)2.16	0.15	1.82	3.07	8	
Annulus fiber	100	0.1	-	-	-
Endplate	20	0.1	7	4.0	10
Cortical bone	12000	0.3	-	-	-
Cancellous bone	100	0.2	-	-	-
Posterior element	3500	0.25	-	-	-

表 1 有限元素模型材料參數

Degeneration level	I	M	S
$\Delta$ Height	0.68	1.05	0.82

表 1 完整組、輕度退化組與重度退化組之椎間盤高度變化量

Degeneration level	I	M	S
Fluid exchange(%)	5.78	8.42	6.29

表 3 完整組、輕度退化組與嚴重退化組之液體交換率結果

Degeneration level	I	M	S
Pore pressure (MPa/hr)	3.09	4.55	5.93

表 4 完整組、輕度退化組與嚴重退化組之孔洞壓力消散率

Degeneration level	I	M	S
Effective stress (MPa/hr)	0.23	0.21	0.24

表 5 退化組和治療組後側環狀基質有效應力量

ΔHeight (mm)	I	M	S
Degenerate	0.68	1.05	0.82
Genipin		0.69	0.98

表 6 退化組和治療組椎間盤高度變化量

Fluid exchange (%)	Intact	Mild	Severe
Degenerate	5.78	8.42	6.29
Genipin		6.31	8.40

表 7 退化組和治療組椎間盤液體交換率

Pore pressure (MPa/hr)	Intact	Mild	Severe
Degenerate	3.09	4.55	5.93
Genipin		2.58	4.00

表 8 退化組和治療組椎間盤孔洞消散率

Effective stress (MPa/hr)	Intact	Mild	Severe
Degenerate	0.23	0.21	0.24
Genipin		0.23	0.19

表 9 退化組和治療組後側環狀基質有效應力量

	Young's modulus(MPa)	$\nu$	$k_0$ (10 <sup>-15</sup> m <sup>4</sup> Ns)	$e_0$
Nucleus pulposus	0.75-1.5 [45,38]	0.1-0.4 [50,38,35]	0.3-1 [38,35,61]	4 [45]
Annulus ground substance	1.5-6 [50,46]	0.1-0.35 [50,38,35]	0.11-0.2 [59,38,60]	2.33 [45]

表 10 過去文獻豬隻組織材料參數

	Young's modulus(MPa)	$\nu$	$k_0$ (10 <sup>-15</sup> m <sup>4</sup> Ns)	$e_0$
Nucleus pulposus	1.58	0.17	5.43	3.80
Annulus ground substance	3.49	0.26	2.67	2.63

表 11 本篇豬隻材料參數

### 九、圖片

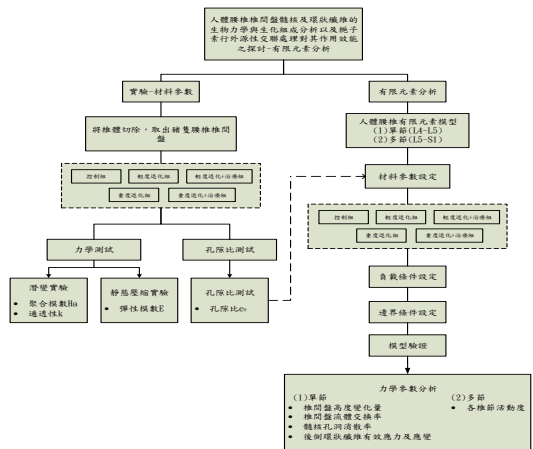


圖 1 研究流程圖

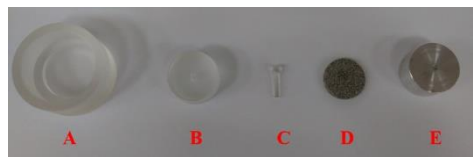
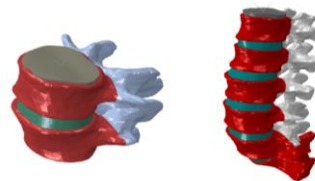


圖 2 實驗治具(A)水槽 (B)封閉式中空治具 (C)壓頭 (D)孔洞板 (E)固定體積治具



圖 3 (A)豬隻腰椎(B)豬隻腰椎椎間盤



(A) (B)

圖 4 (A) 單節腰椎有限元素模型 (L4-L5)(B) 多節腰椎有限元素模型(L1-S1)

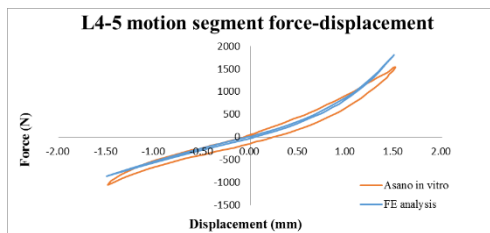


圖 5 有限元素分析與人體體外試驗驗證 (力量-位移曲線)

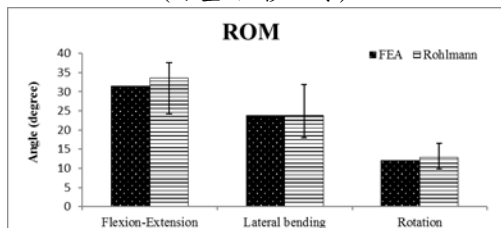


圖 6 有限元素分析與人體體外試驗 (活動度)

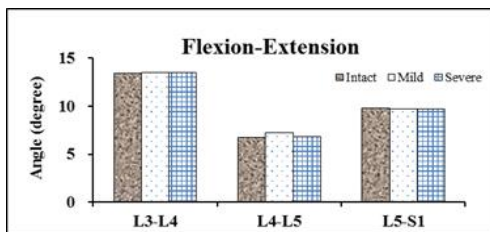


圖 7 前屈-後彎時，退化組活動度

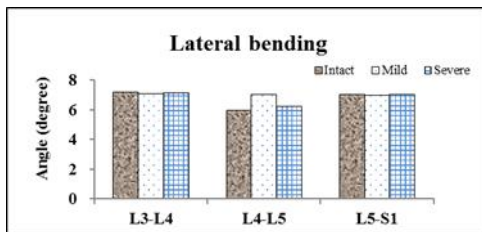


圖 8 側向彎曲時，退化組活動度

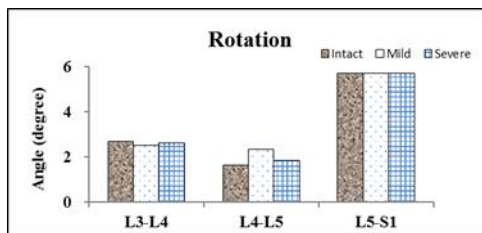


圖 9 扭轉時，退化組活動度

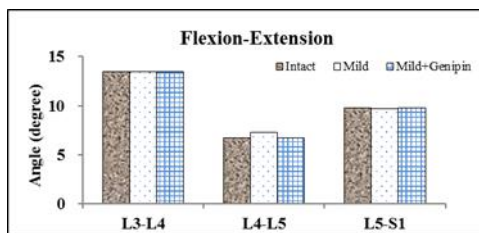


圖 10 前屈-後彎時，輕度退化治療組活動度

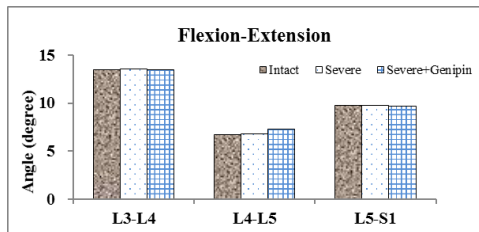


圖 11 前屈-後彎時，重度退化治療組活動度

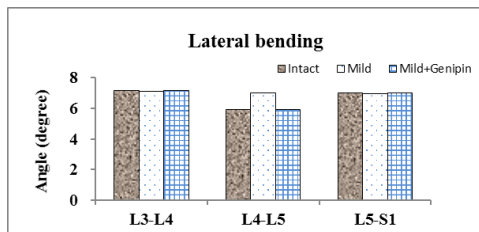


圖 12 側向彎曲時，輕度退化治療組活動度

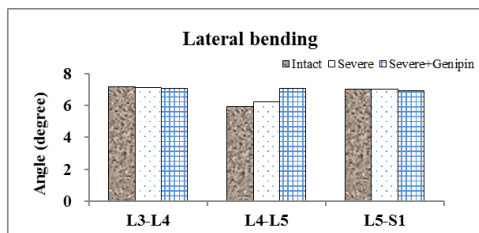


圖 13 側向彎曲時，重度退化治療組活動度

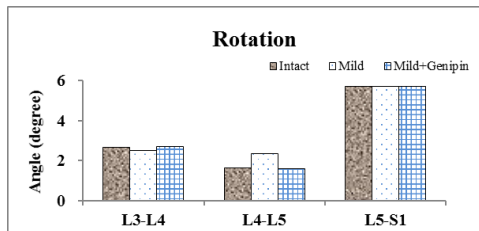


圖 14 軸向彎曲時，輕度退化治療組活動度

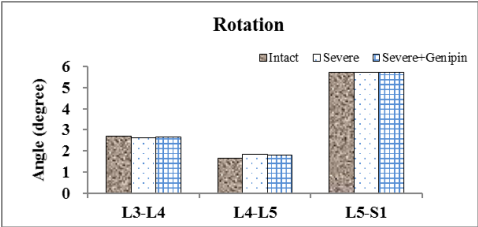


圖 15 軸向彎曲時，重度退化治療組活動度