

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：32601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K21337

研究課題名(和文) 音響加振を用いた低周波数域における関節軟骨の力学特性計測

研究課題名(英文) Measuring Dynamic Viscoelastic Properties of Articular Cartilage by Acoustic Vibration at Low Frequency Range

研究代表者

張 月琳 (ZHANG, YUELIN)

青山学院大学・理工学部・助教

研究者番号：20635685

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では音響加振によって表面に生じる振動に着目し非接触的に関節軟骨の力学的特性である粘弾特性を測定することを目的とする。加振装置はスピーカーから出力される音波をエクスポネンシャル型のノズルを用いて集束し試料へ加振力として入力する。試料表面に励起された振動応答をレーザー変位計を用いて二点同時計測することによって、各加振周波数における位相速度を算出し、Voigtモデルと仮定した試料の粘弾性係数を同定する。提案したシステムの妥当性は、コラーゲン含有率の異なるゼラチンファントム(2wt.%, 5wt.%, 8 wt.%)の50～120Hzにおける粘弾性係数を同定することによって検証した。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to develop a non-contact method for measuring the viscoelastic properties of articular cartilage by acoustic excitation at low frequency. In this method, the articular cartilage's complex shear modulus is obtained by measuring the phase velocity of a stationary wave on the articular cartilage that is excited by a wide range speaker; the displacement response at the surface of the specimen is simultaneously measured at multiple points by two laser displacement sensors. The phase velocities of shear waves are obtained from the displacement responses and then the viscoelastic properties are evaluated using a Voigt model. The effectiveness of the system was investigated by measuring the viscoelastic properties of three gelatin phantoms with different collagen concentration of 2, 5 and 8 wt. % at 50-120 Hz excitation.

研究分野：バイオメカニクス

キーワード：粘弾性特性 音響加振

1. 研究開始当初の背景

関節軟骨は、高含水率な生体組織であり、その特性は表面近傍の軟骨基質が軟骨内外の水分子を拘束することで特徴的な粘弾性特性を有している(1)。その特性から関節軟骨は荷重伝達、衝撃吸収、潤滑等において優れた力学的特性を備えている。そのため人間の運動にとって重要な役割を関節軟骨は担っている。

近年、高齢者の増加に伴い、急速に罹患人口が増加している疾患のひとつに変形性関節症(Osteoarthritis:OA)が挙げられる。OAは、加齢やスポーツなどによる過度な負荷による損傷等によって発症する。OAの発症は、関節軟骨の粘弾性特性の変化をもたらし、上記のような関節軟骨が有する力学的機能が低下する。また、OAは重症化することで歩行が困難となる場合もあり、一度重症化すると健康な軟骨へと再生することは現代医療において大変難しい。変性の進行を和らげる治療法は確立されていることから、日常生活への支障が生じる以前の変性初期段階での早期診断を可能にすることが期待されている。しかし、現在関節軟骨の変性状態を定量的に把握することは困難であり、近年の治療技術の進歩に対し有効な情報を得ることができていない。関節軟骨の力学的特性の定量的な評価方法として、試験片による材料試験方法や関節腔内で実施可能な試験方法が提案されている。Hukinsら(2)は、牛の膝関節軟骨に対し動的インデンテーション試験を行った。Halonenら(3)は、ヒトの膝関節軟骨に対し静荷重試験を行い、CTを用いてモニタリングしFEM解析との比較を行った。また、超音波を用いた低侵襲的な評価法としてマイクロプローブの開発なども報告されている(4)。これらの研究によって関節軟骨の静的および高周波数領域における力学的特性が明らかにされつつある。しかしながら、ヒトの日常動作に見られる5~150Hz(生理学上の周波数領域)の低周波数領域における力学的特性は、検討が不十分である。関節軟骨が有する粘弾性特性は、周波数依存性を持つため、生理学上の周波数領域における関節軟骨の粘弾性特性を非侵襲的な計測手法で明らかにすることが必要である。

2. 研究の目的

本研究では音響加振により表面に生じる振動に着目し非接触的に関節軟骨の力学的特性である粘弾特性を測定することを目的とする。提案する評価手法によって力学特性の測定が可能となれば、関節軟骨の摩耗や損傷による関節軟骨の状態変化を定量的に把握することが早期診断の助けとなることが期待できる。

3. 研究の方法

3.1 表面振動測定による粘弾性特性同定手法

生体組織表面に励起された弾性波を測定

することで粘弾性特性のパラメータの一つである複素せん断モジュラスを同定する。生体組織の表面を伝播する横波速度 c は次式のように与えられる。

$$c = \sqrt{\frac{G}{\rho}} \quad (1)$$

ここで、 G はせん断モジュラス、 ρ は密度である。また粘弾性体であるから減衰係数を考慮に入れるため速度、せん断モジュラスを複素数で扱うと以下の次式ようになる。

$$\frac{1}{c^*} = \frac{1}{c} - i \frac{\alpha}{(2\pi f)} \quad (2)$$

$$G^* = G_1 + iG_2 \quad (3)$$

ここで、 α は減衰定数、 f は周波数を表す。本研究では、粘弾性体を Voigt モデル(バネとダッシュポットの並列接続)として仮定すると複素せん断モジュラス G^* は以下の式のように表すことができる。

$$G^* = G_1 + i(2\pi f)\eta \quad (4)$$

ここで、 η は粘性率である。式(1)、(2)、(4)から横波速度 c について求めると次式が得られる。

$$c = \sqrt{\frac{2(G_1^2 + (2\pi f)^2 \eta^2)}{\rho(G_1 + \sqrt{G_1^2 + (2\pi f)^2 \eta^2})}} \quad (5)$$

したがって、本研究では、音響加振による非接触入力により関節軟骨表面に弾性波を励起し複数点(少なくとも二点)の変位の同時測定によって、位相速度を測定する。複数の周波数に対して測定した横波速度 c を用いて式(5)の方程式を用いてニュートンラフソン法による最小二乗近似を行い複素せん断モジュラスの実部 G_1 と粘性率 η を同定する。

3.2 位相速度測定手法

位相速度の測定方法について図1に測定の概略図を示す。音響振動による加振点近くのある点をA点、そこから任意の距離離れた点をB点とする。A点とB点の変位を同時測定しその位相差を測定する。次にB点の測定点をB点から表面波の一波長内にあるC点に移動させ、A点とC点の変位を同時測定しその位相差を測定する。それぞれA点とB点間、A点とC点間の位相差からB点とC点間の位相差を得ることができると考えられる。またB点とC点間の距離は任意の値なので次から位相速度を得ることができる。

$$c = \frac{D \cdot (2\pi f)}{\theta_{(f)}} \quad (6)$$

ここで、 D は B と C 点間の距離、 $\theta_{(f)}$ は B と C 点間の位相差を表す。

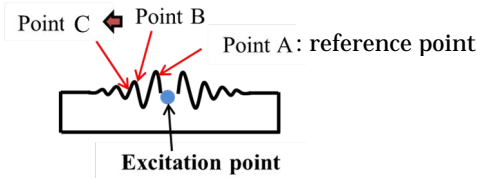


Fig. 1 Schematic diagram of the method for measuring phase velocity.

3.3 実験概要

音響加振システムの模式図を図 2 に示す。音響加振入力装置では、ファンクションジェネレータ (WF1947,NF) によって任意の周波数の正弦波電圧波形を作成し、出力する。出力電圧は、アンプ (SE-A1010,松下電器) によって増幅しスピーカーへ入力される。スピーカーに入力する際に電流計 (VOAC7412,IWATSU) を介しスピーカーに流れる電流をモニターし、スピーカーの規格を超えるような電流が流れないようにアンプによる増幅を調節する。入力電圧によってスピーカーから出力された音波はエキスポネンシャル型のノズルによって収束され試料へ加振力として入力される。

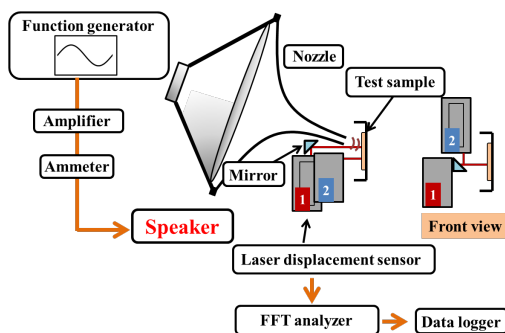


Fig. 2 Schematic views of the of acoustic vibration excitation system. The numbers 1 and 2 represent the displacement sensors.

4. 研究成果

生体軟組織を模擬したゼラチンファントムの計測結果を示し、提案手法による複素せん断モジュラスの実部 G_1 と粘性率 η の同定を行う。

実験条件および測定条件をそれぞれ表 1 に示す 図 3 に実験の様子を示す。本実験では、温度は室温 (およそ 21 °C) での測定とした。入力音波は、正弦波とし周波数は 50 ~ 120 の

周波数領域で実験を行った。変位測定のスプリング周波数は二つの変位計 (LK-H050 ,KEYENCE) とともに 1kHz とし、変位分解能は 0.025 μm で測定を行った。測定点はスピーカーのノズル出口の加振点中心から 2.5 mm 程度離れた点を測定点の A 点とした。A 点から 1.5 mm 離れた点を測定点の B 点とする。B-C 点間の距離はゼラチン試料の場合 0.50 mm、軟骨試料の場合 0.30 mm とした。離れた点を C 点とした。測定点の B 点から C 点への移動はマイクロステージ (ALS-6012-GOM,CHUO SEIKI) を用いて 0.1 mm 刻みで移動させる。ゼラチンファントムはブタ由来の精製コラーゲンタンパク質を温水に溶解させシャーレに流し込み凝固させることで作成した。ファントムの寸法は 52×12 mm である。また溶解させるコラーゲンタンパク質の量を調整することでコラーゲン含有量の異なるファントムを作成した。本実験では、コラーゲン含有量が水分に対し 2wt.%、5wt.%、8 wt.% の三種類について実験を行った。

測定条件で示した A 点、B 点および A 点、C 点の試料表面の振動変位波形を図 4(a)(c) と 5(a)(c) にそれぞれ示す。それぞれの波形において 0.1 秒の間に 8 周期の振動が励起していることが測定できた。このことから、音響加振による入力周波数に準じてファントム表面に強制振動による横波が励起し、伝播していると考えられる。変位応答波形を FFT 解析することにより得られたパワースペクトルを図 4(b)(d) と 5(b)(d) にそれぞれ示す。パワースペクトルは変位測定開始から 30 秒間測定を行

Table 1 Experimental condition and measurement condition.

Temperature	Room air, 21 °C
Input wave type	Sinusoidal
Input current [A]	1.5
Sampling frequency [kHz]	1
Data numbers [points]	8192
Displacement resolution [μm]	0.025

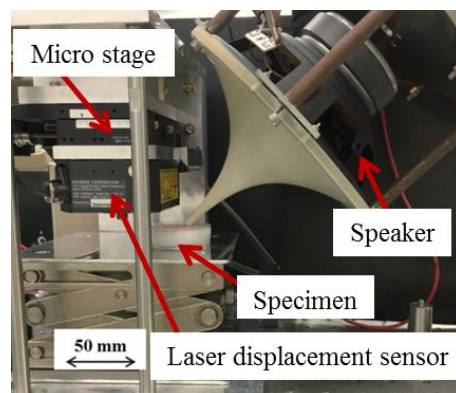


Fig. 3 Actual condition of the experiment of acoustic excitation experiment.

い 加算平均を行った FFT 解析の結果から、80 Hz に変位波形のパワースペクトルがピークを持っており FFT 解析の結果からも変位応答波形が入力周波数の振動であることがわかる。A 点に対する B 点のクロススペクトルおよび A 点に対する C 点のクロススペクトルを用いて位相差を算出するとそれぞれ 0.79 rad, 0.91 rad となった。式(6)を用いて周波数 80 Hz 時の位相速度を算出すると 2.22 m/s となった。同様の測定を違うコラーゲン含有率のファントムに対して行い、それぞれのコラーゲン含有量に対する周波数と位相速度の関係を図 6 に示す。得られた位相速度は、Pak

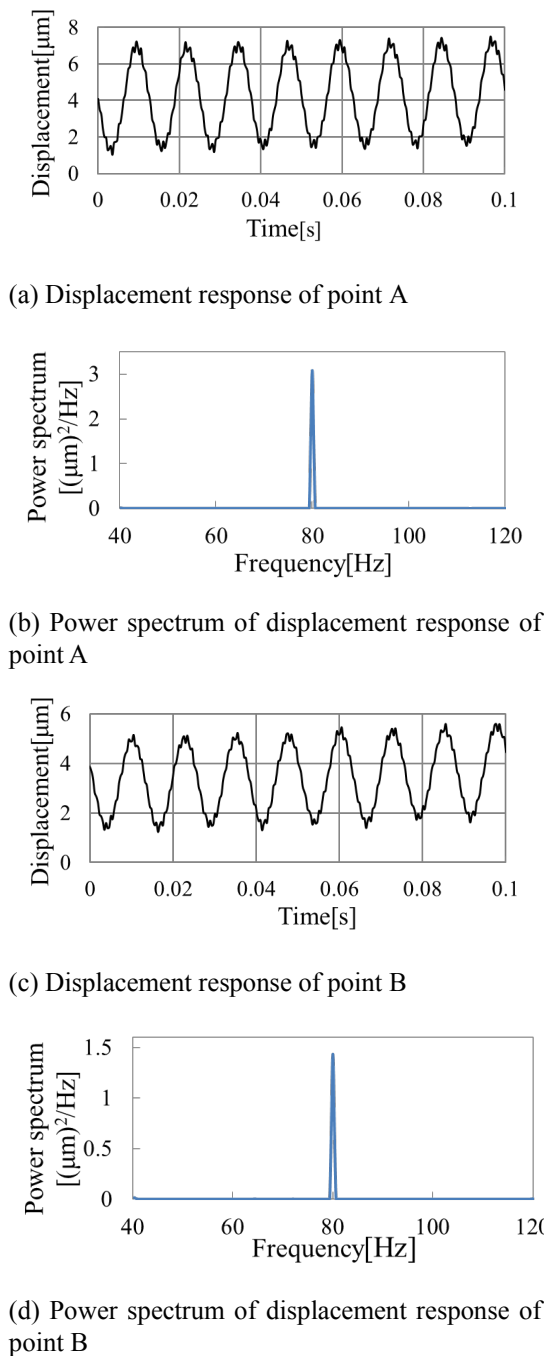


Fig. 4 Experimental results obtained at points A and B at the surface of the specimen.

氏によって報告された動的インデンテーションによりアガーローズゲル (20□, 7 wt.%) に生じる表面波の位相速度(5)とほぼ同程度の値となっていることから妥当な計測結果であると考えられる。図 6 が示す結果より、コラーゲン含有量の違いに依らず、振動周波数が大きくなるほど位相速度が増加していく結果となった。コラーゲン含有量の違いを比較すると、より含有率の多いファントムの方がわずかであるが速い位相速度を示す結果となった。つまりコラーゲン含有量の違いによって位相速度に違いが生じる結果となった。図 6 における近似曲線はそれぞれのコ

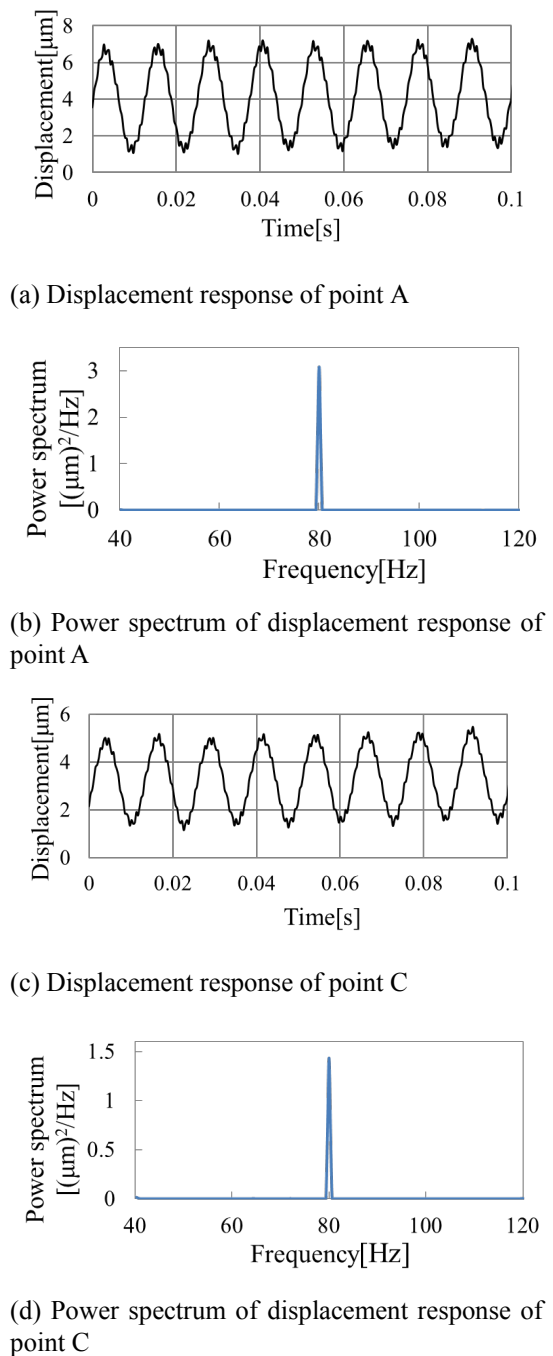


Fig. 5 Experimental results obtained at points A and C at the surface of the specimen.

ラーゲン含有量の実験結果に対しニュートンラフソン法を用いて式(5)の方程式を用いて最小二乗近似した曲線である。近似した曲線から複素せん断モジュラスの実部 G_1 と粘性率 η を同定する。同定した結果を表 2 に示す。得られた複素せん断モジュラスの実部 G_1 と粘性率 η は、ともにコラーゲン含有量が多い試験片の方が大きい値を示した。この傾向は作成したファントムの硬さとも矛盾がないことから妥当であると考えられる。特に G_1 の結果の方がコラーゲン含有率の違いが大きく影響し、8 wt.%の G_1 は 2 wt.%のおよそ 2 倍の値となった。

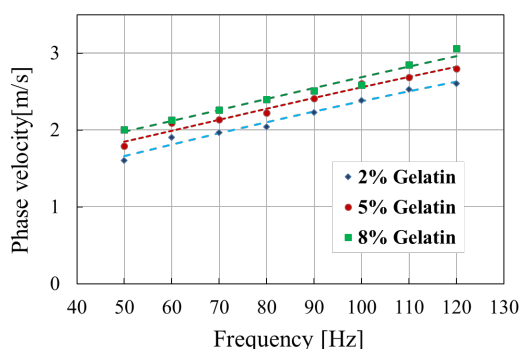


Fig. 6 Phase velocity as function of frequency using different collagen gel concentrations. The dots are the measured data and dashed lines are the curves obtained using Eq. (5).

Table 2 Real parts of the shear complex modulus and coefficient of viscosity at different collagen concentrations.

Collagen content [wt.%]	G_1 [kPa]	η [Pa·s]
2	1.27	5.64
5	1.97	6.70
8	2.42	7.46

本研究では音響加振によって生体組織表面に生じる振動を測定することでその粘弾性特性を同定する手法を示した。測定パラメータおよびその測定方法を示し、音響加振実験装置の構築を行った。ゼラチンファントムに対し音響加振実験を行い提案手法の有効性を検討した。

<引用文献>

- (1) 井村 真知子, 滑膜由来間質細胞から生成した組織再生材料(TEC)の軟骨修復への応用: 修復軟骨の動的・静的圧縮特性, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, Vol.29, (2009), pp.135-140.
- (2) David WL Hukins, Viscoelastic properties of bovine knee joint articular cartilage: dependency on thickness and loading frequency, BMC Musculoskeletal Disorder, Vol.15, (2014), pp.205-214.

- (3) K.S. Halonen, Deformation of articular cartilage during static loading of a knee joint – Experimental and finite element analysis, Journal of Biomechanics, Vol.47, (2014), pp.2467-2474.
- (4) 森 浩二, 超音波を利用した関節軟骨の非接触評価, 日本機械学会論文集(A 編), Vol.70, No.700, (2004), pp.98-105.
- (5) Pak-kon Choi, Measurement of shear modulus in soft materials using surface acoustic waves, IEICE Technical Report US2013, No.31, (2013), pp.47-50.
- (6) Xiaoyin He, A quantitative ultrasonic spectroscopy method for noninvasive determination of corneal biomechanical properties, IOVS, Vol. 50, No. 11, (2009), pp.5148-5154.
- (7) Takako Osawa, Evaluation of viscoelastic property of articular cartilage based on mechanical model considering tissue microstructure, Journal of Biomechanical Science and Engineering, Vol. 7, No. 1, (2012), pp.31-42.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Yuelin ZHANG, Tatsunori YOSHINO and Satoru YONEYAMA, Development of a Non-Contact Method for Measuring Viscoelastic Properties of Articular Cartilage, *Advanced Experimental Mechanics*, 査読有, Vol. 3, 2018, *In Press*.

〔学会発表〕(計 3 件)

吉野達紀, 張 月琳, 米山 聡, 音響加振を用いた関節軟骨の低周波数域における動的粘弾性特性の計測, 第 27 回バイオフロンティア講演会論文集, No.16-64, 61-62, 2016

吉野達紀, 張 月琳, 米山 聡, 音響加振を用いた関節軟骨が有する周波数依存性の計測, Dynamics and Design Conference 2017 論文集, No.625, 2017

Tatsunori YOSHINO, Yuelin ZHANG and Satoru YONEYAMA, Measuring Frequency Dependence of Articular Cartilage by Acoustic Vibration, Proceeding of 12th International Symposium on Advanced Science and Technology in Experimental Mechanics, 査読有, No.61, 2017

6. 研究組織

(1) 研究代表者

張 月琳 (ZHANG, Yuelin)
青山学院大学・理工学部・機械創造理工学科・助教
研究者番号: 20635685