

令和元年5月20日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K14553

研究課題名（和文）骨梁強度特性と分子・結晶構造特性に基づく海綿骨強度予測モデル

研究課題名（英文）Effects of the elastic modulus of single trabeculae and nanostructure on the stiffness and strength of cancellous bone

研究代表者

山田 悟史（Yamada, Satoshi）

北海道大学・大学院工学研究院・助教

研究者番号：90730169

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：骨粗鬆症は骨強度が低下し骨折リスクが増大する疾患であり、海綿骨の多い部位での骨折が多い。海綿骨強度の評価には、骨密度や骨梁配向の他に、骨梁自体の強度特性、組織の力学的特性を決定する分子・結晶レベルの構造特性が重要であるが、これらは明らかでない。そこで本研究では、海綿骨強度予測モデルの開発のため、骨梁弾性率と骨梁内の分子・結晶レベルの構造特性を調査し、これらの特性と海綿骨強度特性との関係を整理した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、海綿骨を構成する骨梁の強度特性と組織の分子・結晶レベルの構造特性を明らかにした。骨粗鬆症は骨強度が低下し骨折リスクが増大する疾患であり、主に海綿骨で構成される部位での骨折が多い。海綿骨は、骨梁が網目状に配列した構造を有し、骨梁はコラーゲン線維とハイドロキシアパタイト結晶で構成される。そのため、海綿骨強度を決定する構造的・力学的因子の解明は、骨粗鬆症の予防・診断・治療において重要となる。

研究成果の概要（英文）：Mechanical and structural factors for determining the stiffness and strength of the cancellous bone need to be fully elucidated to further understand the impact of osteoporosis and medicines on the risk of bone fracture. The cancellous bone is organized into a three-dimensional network of single trabeculae, and the apparent elastic modulus and strength depend on the network. The mechanical properties and nanostructure of each trabecula are also important factors in determining the mechanical properties of the cancellous bone. Therefore, this study investigated the elastic modulus of the single trabeculae taken from bovine femurs by micro-cantilever bending tests and its nanostructure by X-ray diffraction and small-angle X-ray scattering. Furthermore, the stiffness and strength of cubic cancellous bone specimens taken from bovine femurs were investigated to understand the effects of the elastic modulus of a single trabecula.

研究分野：機械工学

キーワード：バイオメカニクス 材料力学 強度 骨組織 海綿骨 骨梁 階層構造

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 骨粗鬆症は、骨強度が低下し骨折リスクが増大する疾患である。骨粗鬆症では、脊椎や大腿骨頸部等の海綿骨の多く含まれる部位での骨折が多く報告されている(引用文献①)。海綿骨強度の予測や制御には、海綿骨強度に及ぼす構造的・力学的因子を明らかにすることが重要となる。

(2) 海綿骨は、図1に示すように、階層構造を有する。海綿骨は骨梁が3次元網目状に配列した構造を有し、骨梁は、ナノスケールでは、主にコラーゲン線維とハイドロキシアパタイト結晶で構成される。したがって、海綿骨の見かけの弾性率や強度は、骨密度や骨梁構造の他に、骨梁自体の強度特性や組織の力学的特性を決定する分子・結晶レベルの構造特性に依存すると考えられるが、これらの特性や海綿骨の力学的特性への寄与は明らかでない。

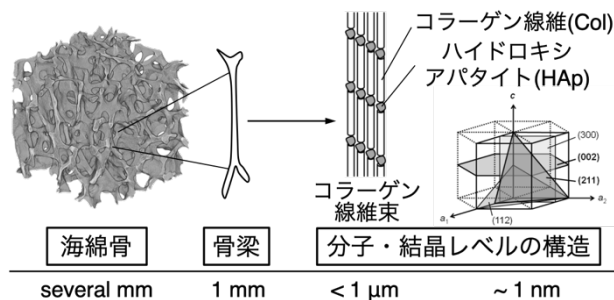


図1 海綿骨の階層構造

(3) これまでに、海綿骨の骨梁形態を評価するパラメータとして Structure Model Index (SMI) が提案され、海綿骨の見かけの弾性率や強度との相関が報告されてきた(例えば引用文献②)。SMIは骨梁が理想的な板状のときを0、棒状のときを3とし、その間の混合状態を0~3で指標化する。しかし、骨梁形態による骨梁自体の強度特性の変化は明らかでなく、骨梁形態や骨梁自体の強度特性が海綿骨強度特性に及ぼす機序は明らかでない。また、部位により海綿骨の骨密度は異なり、海綿骨の見かけの弾性率や強度が異なる。しかし、構成する骨梁の強度特性の部位による差異やその寄与は明らかでない。

(4) 骨梁は試料が小さく力学試験が難しいため、その報告例は少ない(引用文献③)。研究代表者らは、小型引張試験機を作製し単一骨梁の引張試験を実施した(引用文献④)。しかし、微小な骨梁の引張試験片の作製および計測が困難であったため、単一骨梁の弾性率計測法として、骨梁の片持梁曲げ試験を提案した(引用文献⑤)。本手法は、骨梁を海綿骨から完全に切り出す必要がないため、試験片の作製および負荷中の試験片の固定が容易であるという利点を有する。

2. 研究の目的

(1) そこで本研究では、海綿骨強度予測モデル開発のため、海綿骨強度に及ぼす骨梁強度特性および分子・結晶レベルの構造特性を明らかにすることを目的とした。そのため、補助事業期間全体を通じて、以下を実施した。①棒状・板状の骨梁形態によらず単一骨梁の計測が可能な骨梁の片持梁曲げ負荷に基づく骨梁強度特性計測システムを開発し、骨梁強度特性を調査した。②広角X線回折および小角X線散乱による単一骨梁内の分子・結晶レベルの構造特性の計測方法を整理し、分子・結晶レベルの構造特性を計測、調査した。③これらの骨梁強度特性および分子・結晶レベルの構造特性が海綿骨強度に及ぼす影響を調査した。

3. 研究の方法

(1) 単一骨梁試験片は、ウシ大腿骨頸部および近位骨幹端の海綿骨より採取し、骨梁弾性率を計測した。また、皮質骨と海綿骨組織の違いに着目し、皮質骨—海綿骨遷移領域の骨梁弾性率を計測した。海綿骨をスライス状に切り出し、測定対象の骨梁の上端に接続する海綿骨を切除し、骨梁の下端に接続する海綿骨を直方体状に整形した。エポキシ樹脂を用いて、直方体状に整形した海綿骨部分をアクリル製の治具に包埋し、単一骨梁試験片を作製した。

(2) 棒状・板状の骨梁形態によらず単一骨梁の片持梁曲げ負荷(引用文献⑤)が可能な骨梁強度特性計測システムを開発した(図2)(学会発表⑤)。本研究では、骨梁の弾性率に着目した。棒状骨梁および板状骨梁に対応するため、昇降ステージ、1軸ステージおよび回転ステージにより骨梁先端の負荷位置及び負荷方向が調整可能な機構とした。1軸自動ステージをアクチュエータとし、骨梁先端にたわみを付与した。微小荷重ロードセルにより曲げ負荷を計測し、デジタルマイクロスコープに

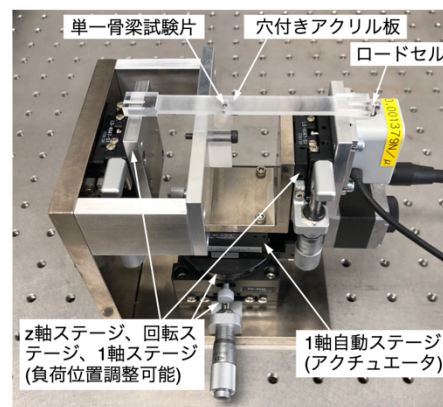


図2 骨梁強度特性計測システム

より負荷点のたわみを計測した。マイクロフォーカスX線CTを用いて試験片形状を取得し、骨梁を円柱または板に近似した。片持梁曲げ試験における荷重-たわみ関係より、骨梁弾性率を計算した。

(3) 広角X線回折および小角X線散乱による単一骨梁試験片内の分子・結晶レベルの構造特性の計測方法および計測条件を整理した(図3)。X線2次元検出器イメージングプレートを用いて広角X線回折計測により骨梁内のハイドロキシアパタイト結晶c軸の配向性を観察した。得られた広角X線回折像より、ハイドロキシアパタイト結晶c軸の配向度を計算した。また、イメージングプレートを用いた小角X線散乱計測により、骨梁内のコラーゲン線維由来の小角X線散乱像を取得した。

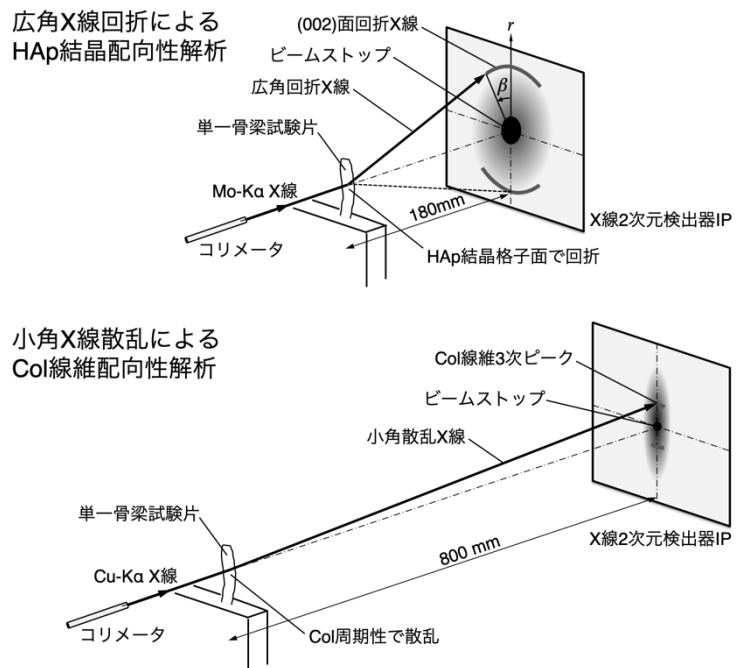


図3 広角・小角X線回折による分子・結晶構造解析法

(4) 骨梁の大きさを考慮し、海綿骨の力学試験に適した試験片形状及び試験条件を検討した。単一骨梁試験片を採取したウシと同じ年齢の別個体の大腿骨頸部および近位骨幹端より、5×5×5 mmの海綿骨立方体試験片を採取した。このとき、立方体試験片の各面は、Lateral-Medial軸、Anterior-Posterior軸、骨幹長軸にそれぞれ垂直とした。マイクロフォーカスX線CTを用いて、試験片形状を取得した。海綿骨立方体試験片の各軸について圧縮試験を行い、3軸の平均弾性率を測定した。また、骨幹長軸の圧縮強度を計測した。

4. 研究成果

(1) ウシ大腿骨頸部および近位骨幹端の海綿骨より棒状の単一骨梁試験片を採取し骨梁弾性率を計測した結果、部位による骨梁弾性率の有意な差は認められなかった。近位骨幹端における骨梁弾性率は 9.1 ± 5.4 GPa であり、頸部の骨梁弾性率は 10.8 ± 4.3 GPa であった(学会発表④⑦)。また、骨梁弾性率と骨梁配向の有意な相関は認められなかった(学会発表⑨⑩)。ウシ大腿骨より採取した棒状骨梁と板状骨梁の骨梁弾性率を比較した結果、明らかな差は認められなかった。棒状骨梁の弾性率は 10.6 ± 4.9 GPa であり、板状骨梁の弾性率は 8.5 ± 2.5 GPa であった(学会発表③)。一方、皮質骨-海綿骨遷移領域の骨梁弾性率を計測した結果、海綿骨内部に比べて有意に低いことを示した(学会発表⑥)。以上より、海綿骨内部の骨梁の弾性率は、ばらつきはあるが、採取部位や骨梁形態によらず局所的に一定であると考えられる。

(2) X線2次元検出器イメージングプレートを用いて広角X線回折計測により単一骨梁試験片内のハイドロキシアパタイト結晶c軸の配向性を観察した結果、棒状骨梁において、c軸が骨梁長軸に配向する傾向が認められた(学会発表⑧⑨⑩)。得られたハイドロキシアパタイト結晶(211)面の広角X線

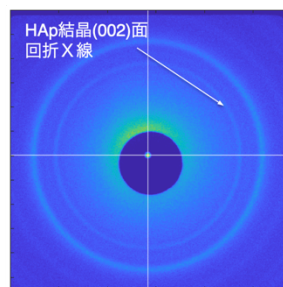


図4 板状骨梁の広角X線回折像

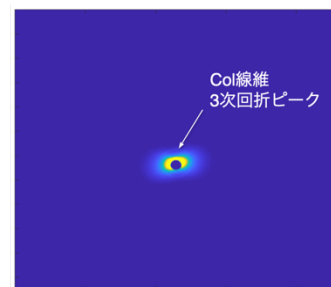


図5 板状骨梁の小角X線散乱像

回折像よりc軸の骨梁長軸に対する配向度 $\langle \cos^2 \beta \rangle$ を計算した結果、骨梁弾性率と $\langle \cos^2 \beta \rangle$ の有意な相関は認められなかった(学会発表⑧⑨⑩)。板状骨梁において、同様に結晶配向性が認められ(図4)、結晶配向軸に対する配向度 $\langle \cos^2 \beta \rangle$ は、棒状骨梁の配向度と有意な差は認められなかった。また、イメージングプレートを用いた小角X線散乱計測により、単一骨梁試験片の小角X線散乱像を取得することができ、コラーゲン線維による3次回折ピークを観察することができた(図5)。コラーゲン線維の配向性とハイドロキシアパタイト結晶の配向性の対応は

今後の検討課題である。以上より、骨梁内のハイドロキシアパタイト結晶は、棒状骨梁では骨梁長軸への配向性を有し、板状骨梁においても同様に特定の方向への配向性を有することがわかった。一方、骨梁弾性率のばらつきに対する結晶配向度の寄与は、本研究では認められなかった。

(3) ウシ大腿骨頸部および近位骨幹端より採取した海綿骨立方体試験片の圧縮試験の結果、海綿骨の平均弾性率や圧縮強度は近位骨幹端に比べて頸部において有意に高いことを確認した。海綿骨の平均弾性率と圧縮強度は、骨密度 BV/TV、骨梁幅 Tb.Th と有意な正の相関を示し、SMI と有意な負の相関を示した (学会発表①②④)。

(4) 海綿骨の平均弾性率や圧縮強度が両部位で異なった一方、骨梁弾性率には明らかな差が認められなかった (学会発表①④)。また、骨梁形態を示す SMI と海綿骨の平均弾性率や圧縮強度に有意な相関が認められた一方、骨梁形態による骨梁弾性率の明らかな差は認められなかった (学会発表③)。以上より、骨梁幅や骨梁長さ等の骨梁形状の影響を含む骨梁剛性が、骨密度とともに海綿骨強度特性に寄与する可能性が示唆された (学会発表①②④)。今後、海綿骨を構成する骨梁の骨梁形状を含む骨梁剛性の寄与を明らかにすることが重要であると考えられる。

<引用文献>

- ① 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン作成委員会, 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2015 年版, 2015
- ② Kaori Endo, Satoshi Yamada, Masahiro Todoh, Masahiko Takahata, Norimasa Iwasaki, Shigeru Tadano, Structural strength of cancellous specimens from bovine femur under cyclic compression, PeerJ, Vol. 4, 2016, pp. e1562
- ③ Dan Wu, Per Isaksson, Stephen J. Ferguson, Cecilia Persson, Young's modulus of trabecular bone at the tissue level: A review, Acta Biomaterialia, Vol. 78, 2018, pp. 1-12
- ④ Satoshi Yamada, Shigeru Tadano, Sakurako Fukuda, Nanostructure and elastic modulus of single trabecula in bovine cancellous bone, Journal of Biomechanics Vol. 47, No. 14, 2014, pp. 3482-3487
- ⑤ Satoshi Yamada, Shigeru Tadano, Koichi Fukasawa, Micro-cantilever bending for elastic modulus measurements of a single trabecula in cancellous bone, Journal of Biomechanics, Vol. 49, No. 16, 2016, pp. 4124-4127

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 10 件)

- ① 山田悟史, 深沢光一, 長尾春奈, 東藤正浩, 但野茂, 海綿骨弾性率・強度に対する骨梁剛性の寄与, 第 31 回北海道骨粗鬆症研究会学術集会, 2019
- ② 山田悟史, 長尾春奈, 高橋祐太, 東藤正浩, 但野茂, ウシ大腿骨における海綿骨強度と骨梁剛性・ネットワーク構造特性, 日本機械学会第 31 回バイオエンジニアリング講演会, 2018
- ③ 高橋祐太, 山田悟史, 東藤正浩, 但野茂, ウシ大腿骨近位海綿骨における骨梁形態と弾性率, 日本機械学会第 29 回バイオフロンティア講演会, 2018
- ④ Satoshi Yamada, Masahiro Todoh, Shigeru Tadano, Effects of single trabecula stiffness on cancellous bone strength in bovine femoral neck and metaphysis, 8th World Congress of Biomechanics (WCB2018), 2018
- ⑤ 高橋祐太, 長尾春奈, 山田悟史, 東藤正浩, 但野茂, 海綿骨板状骨梁の弾性率計測, 第 3 回日本バイオマテリアル学会北海道ブロック研究会, 2018
- ⑥ 長尾春奈, 山田悟史, 東藤正浩, 但野茂, 皮質骨-海綿骨構造における骨梁弾性率, 日本機械学会第 30 回バイオエンジニアリング講演会, 2017
- ⑦ 山田悟史, 深沢光一, 東藤正浩, 但野茂, ウシ大腿骨頸部・近位骨幹端における骨梁弾性率, 日本機械学会第 30 回バイオエンジニアリング講演会, 2017
- ⑧ Satoshi Yamada, Masahiro Todoh, Shigeru Tadano, Elastic modulus and crystal orientation in a single trabecula, The fifth Switzerland-Japan Workshop on Biomechanics (SJB2017), 2017
- ⑨ Satoshi Yamada, Koichi Fukasawa, Masahiro Todoh, Shigeru Tadano, Elastic modulus and hydroxyapatite crystal orientation in a single trabecula, XXVI Congress of the International Society of Biomechanics 2017 (ISB 2017), 2017
- ⑩ Satoshi Yamada, Elastic modulus and nanostructure of a single trabecula in bovine cancellous bone, XXVI Congress of the International Society of Biomechanics 2017 (ISB 2017), 2017

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。