

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17158

研究課題名（和文）骨塩定量ではわからない骨質の評価：コラーゲンの微細磁化構造に着目したMRIの応用

研究課題名（英文）Assessment of collagen fiber orientation in cortical bone using MRI-a pilot study of assessing bone quality

研究代表者

唐 明輝（Tang, Minghui）

北海道大学・医学研究院・特任助教

研究者番号：80794156

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では皮質骨にあるコラーゲン線維の骨軸方向の配向性をMRIにより非侵襲的に測定できるか検証した。まず正常骨のMR信号が骨軸と静磁場方向の角度依存性を調べ、180°周期の角度依存性の振幅がコラーゲン線維は骨軸方向の配向性を反映することを確認した。また、大理石骨病マウス大腿骨も調べ、その角度依存性の振幅が正常マウスより大幅に低下したことから、MRIにより非侵襲的に皮質骨のコラーゲン線維の配向性を測定できる可能性があることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現状の骨粗鬆症診断の骨塩定量検査のみでは、骨量が十分でも骨強度が劣化している場合が少なくなく骨折リスクを予測できないことが課題となっている。本研究では、MRIを用いて、骨密度に加え骨強度を決める重要な因子である骨中コラーゲン配向性情報を非侵襲的に検出する方法を開発し、骨強度を反映する骨質を診断する方法の確立を目指した。本研究の完遂によりMRI検査のみで骨密度とコラーゲン配向性情報を同時に取得し、非侵襲的かつ簡便に骨折リスクの予想が可能となることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we confirmed whether the collagen fiber orientation in cortical bone could be assessed non-invasively using MRI. We investigated the angle dependence of MR signal in normal bone specimens, revealing a distinct amplitude modulation following a 180° periodicity which reflects the directional orientation of collagen fibers along the bone axis. Subsequently, we measured the femoral bones of a normal and an osteopetrotic mouse showing a considerable reduction in the amplitude for osteopetrotic one. These evidences suggest the potential capability of MRI as a non-invasive technique for assessing the collagen fiber orientation in cortical bone.

研究分野：磁気共鳴医学

キーワード：MRI 骨質診断 骨中コラーゲン UTE 磁化率異方性 骨強度 骨中コラーゲン配向性

1. 研究開始当初の背景

骨粗鬆症の診断は、DXA (dual X-ray absorptiometry) を用いた骨塩定量検査が広く行われている。DXA 法は、X 線を用いて腰骨または大腿骨の骨密度を測定する方法で、骨密度が健常若年成人の 70% 以下の場合を骨粗鬆症と診断しているが、骨強度は骨密度のみでは決まらず、骨折リスクは予知できないままである [1]。骨強度は、骨構造と骨材質特性などの骨質とよばれる情報にも依存することが報告されており [2]、骨折リスクの診断にはこのような骨質情報が必要である [3]。骨質の中でも、特に骨材質特性の一つであるコラーゲン配向性は骨強度を決める重要な因子である [4]。しかし、コラーゲン配向性は、採取した骨組織を対象に X 線回折法などを用いなければ解析できず、臨床に使える非侵襲的コラーゲン配向性評価法はまだ開発されていない。本研究では、磁気共鳴画像法 (MRI) を用いて、骨密度に加え骨強度を決める重要な因子である骨中コラーゲン配向性情報を非侵襲的に検出する方法の開発を目指す。

2. 研究の目的

本研究は、MRI を用いてコラーゲン配向性を評価し、非侵襲的に骨質を診断する方法の検討を目指す。図 1 は骨密度とコラーゲン配向性を両軸にとり、骨病態を概念的に示した図である。骨は骨芽細胞と破骨細胞の適度なバランスにより正常な骨質が保たれている。破骨細胞が優位になり骨密度が低下すると骨粗鬆症と診断され、その中でも骨基質のコラーゲン配向性が高まると硬く脆くなり骨折リスクが上昇する。一方、大理石骨病は、骨芽細胞が優位になり骨密度が高まることで皮質骨が硬く脆くなる病態である。この場合も骨折リスクが高まるが、コラーゲン配向性は低下している。本研究は、MRI によりコラーゲン配向性を反映する情報を取得することを目的とした。

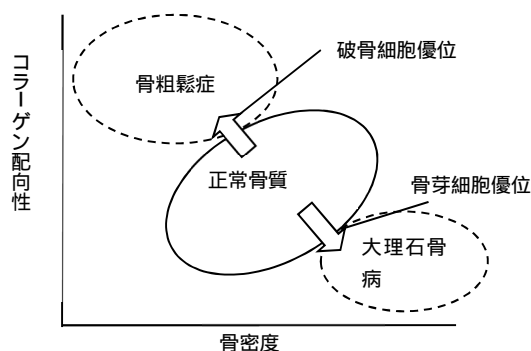


図 1 骨質と骨病態の概念図
それぞれの病態で骨折リスクの高い領域を点線で囲んだ。

3. 研究の方法

(1) MRI 信号の骨軸角度依存性とコラーゲン配向性の関係を調べた

牛の大腿骨サンプル (4 ヶ月、2 歳) を回転盤の中央に置き、この回転盤を 3T MRI 装置のガントリー中心に設置した。このとき、骨サンプルの骨軸が静磁場方向を向くように設定した。皮質骨のシングルスライス (スライス厚 0.94 mm) 画像を、コラーゲン周囲の結合水からの信号を強調する UTE (ultrashort echo time) パルスシーケンスを用いて取得した。つぎに、回転盤を 0° から 360° まで 30° 毎に回転させて、この撮像をそれぞれの角度で行った。取得した各角度での画像の回転盤中心に関心領域 (169 mm²) を設定し、信号強度を測定した。MR 信号が単一成分であることを仮定し、信号強度より見かけ上の横緩和率 ($R2^*$) およびプロトン密度 (S_0) を求めた。 $R2^*$ はコラーゲン周囲の微細な磁場歪みを反映し骨サンプルの角度依存性が現れるので、角度に依存した $R2^*$ の最大変化量 ($\Delta R2^*$) も求めた。また、形状異方性を調べるため、サンプル形状を模擬した円柱状均一ファントムを用いて MR 信号角度依存性を測定した。

(2) $R2^*$ と DXA の結果 (コラーゲン配向性) 対応関係を調べた

正常マウスの大腿骨を対象に、(1) と同じような手法で撮像し、骨軸方向の位置による $R2^*$ の変化を求めた。得られた結果と報告されたコラーゲン配向性を表す DXA の結果と比較した。

(3) 骨病を検出できるか否かを検討した

遺伝子操作により大理石骨病を発症させたマウス及びおよび正常マウスの大腿骨を対象に、(1) と同じような手法で、骨病による皮質骨の $R2^*$ を調べた。

4. 研究成果

(1) MRI 信号の骨軸角度依存性とコラーゲン配向性の関係

皮質骨 MR 信号は有意な 180° 周期の角度依存性 (4 ヶ月: $r=0.98$, $p<0.01$, 2 歳: $r=0.96$, $p<0.01$) を示し、静磁場方向と骨軸が垂直の時に極大、平行の時に極小となった。この角度依存性は、皮質骨コラーゲン線維の $R2^*$ 異方性を反映しており [5]、UTE 法を用いてコラーゲン分子近傍

の結合水からの信号を取得することで、コラーゲン線維の R_2 異方性を捉えることができた。また、骨が成熟すると R_2^* は減少し(図 2)、牛年齢による磁場歪みの低下が示唆された。サンプル形状による影響を調べるために求めた円柱状均一ファントムの R_2^* は 0.45kHz であった。本研究で得られた皮質骨の R_2^* は数 kHz オーダーであり、サンプル形状による MR 信号角度依存性への影響は小さいものと考えられる。コラーゲン線維が集合しコラーゲン分子による磁化が集約されている場合は、分散している場合よりも大きな磁場歪みを引き起こす。年齢が若い骨ほどコラーゲン線維が集合しており、それにより大きな磁場歪みが発生し、 R_2^* の値が大きくなったと解釈できる。また、骨の成熟に伴いコラーゲン線維間にミネラルが成長し、コラーゲン線維が分散構造化すると推察される。加齢による R_2^* の減少は、このようなコラーゲン線維の構造変化を反映していると考えられる。

(2) R_2^* と DXA の結果 (コラーゲン配向性) 対応関係

正常マウスの骨軸方向の位置による R_2^* では中央が高く、両端が低くなった(図 3)。これらの結果は DXA 法で測定した同年齢のマウスサンプルの結果[6]と一致した。この結果により、MRI により非侵襲的に皮質骨のコラーゲン線維の配向性を測定することが可能と考えられる。

(3) 骨病を検出できるか否かを検討

R_2^* の値において、大理石骨病マウス (1.46 kHz) では正常マウス (2.50 kHz) より大幅に低下した。近年の研究では、正常マウスのコラーゲン線維は大腿骨内の骨軸に沿って均質に配向しているのに対し、大理石骨病マウスでのコラーゲン線維は骨軸に沿わず斑状に分布することが報告された[6]。すなわち、大理石骨病マウスのコラーゲン線維配向性は劣化する。したがって大理石骨病マウスでは、コラーゲン線維配向性の劣化によりコラーゲン線維の R_2 異方性が相殺されたため、角度に依存した信号強度の変化が見られず R_2^* も減少したと考えられる。

以上のことから本研究では、骨中コラーゲン配向性情報を非侵襲的に検出する方法の開発を目的として、動物サンプルを対象に MRI 信号の骨軸角度依存性とコラーゲン配向性の関係、 R_2^* と DXA の結果(コラーゲン配向性)対応関係、骨病を検出できるか否かを検討について研究を進んできた。 R_2^* が骨中コラーゲン配向性を反映することを実証できた。今後は、MRI により骨密度の測定法をさらに開発し、人を対象として、図 1 の概念図にある正常骨質であるか否かを診断する方法を開発する。

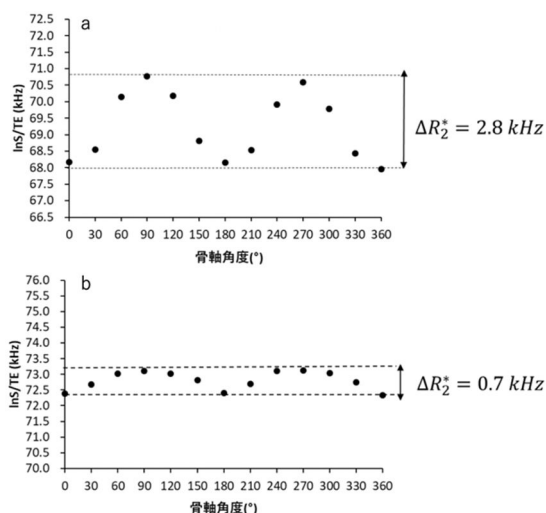


図 2 牛皮質骨の $\ln S/TE$ の角度依存性 (a) 4ヶ月骨試料、(b) 2歳骨試料。 R_2^* は最大値と最小値の差。

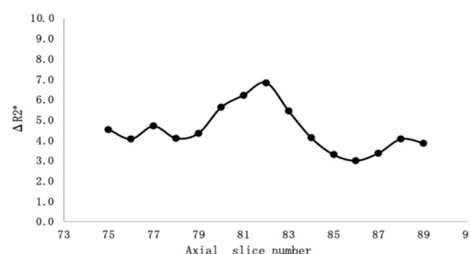


図 3 正常マウスの骨軸方向の位置による R_2^* の変動

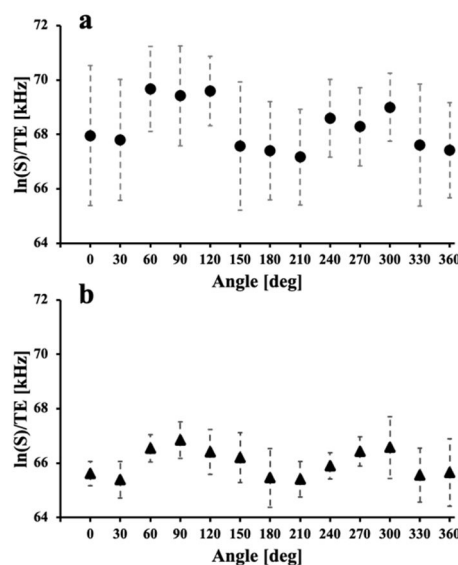


図 4 ラット皮質骨の $\ln S/TE$ の角度依存性 (a) 正常マウス、(b)大理石骨病マウス。

[1] Marques A, Lucas R, Simões E, Verstappen SMM, Jacobs JWG, da Silva JAP. Do we need bone mineral density to estimate osteoporotic fracture risk? A 10-year prospective multicentre validation study. RMD Open. 2017 Sep 26;3(2):e000509. doi: 10.1136/rmdopen-2017-000509. PMID: 29018567; PMCID: PMC5623321.
 [2] Compston J. Bone quality: what is it and how is it measured? Arq Bras Endocrinol Metabol. 2006 Aug;50(4):579-85. doi: 10.1590/s0004-27302006000400003. PMID: 17117283.
 [3] Jindal M, Lakhwani OP, Kaur O, Agarwal S, Garg K. Bone Density versus Bone Quality

as a Predictor of Bone Strength. *Ortho & Rheum Open Access J* 2018; 12(1): 555830. DOI: 10.19080/OROAJ.2018.12.555830.

[4] Martin RB, Lau ST, Mathews PV, Gibson VA, Stover SM. Collagen fiber organization is related to mechanical properties and remodeling in equine bone. A comparison of two methods. *J Biomech.* 1996 Dec;29(12):1515-21. PMID: 8945649.

[5] Wei H, Dibb R, Decker K, Wang N, Zhang Y, Zong X, Lin W, Nissman DB, Liu C. Investigating magnetic susceptibility of human knee joint at 7 Tesla. *Magn Reson Med.* 2017 Nov;78(5):1933-1943. doi: 10.1002/mrm.26596. Epub 2017 Jan 17. PMID: 28097689; PMCID: PMC5513801.

[6] Ishimoto T, Sato B, Lee JW, Nakano T. Co-deteriorations of anisotropic extracellular matrix arrangement and intrinsic mechanical property in c-src deficient osteopetrotic mouse femur. *Bone.* 2017 Oct;103:216-223. doi: 10.1016/j.bone.2017.06.023. Epub 2017 Jul 15. PMID: 28716550.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Minghui Tang, Ken Masuyama, Masahiro Todoh, Toru Yamamoto
2. 発表標題 Angular dependency of MR signal of cortical bone
3. 学会等名 第118回日本医学物理学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ken Masuyama, Minghui Tang, Masahiro Todoh, Toru Yamamoto
2. 発表標題 Angular dependency of MR signal of cortical bone
3. 学会等名 第47回日本磁気共鳴医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ken Masuyama, Minghui Tang, Masahiro Todoh, Toru Yamamoto
2. 発表標題 Angular dependence of UTE signal of cortical bone - a pilot study of assessing structure of collagen matrix using MRI
3. 学会等名 The 36th Annual Scientific Meeting of the European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Minghui Tang, Ken Masuyama, Takayoshi Nokano, Toru Yamamoto
2. 発表標題 Angular dependence of UTE signal of mouse femur - a pilot study of assessing structure of collagen matrix using MRI
3. 学会等名 The 28th Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sato D, Masuyama K, Abe Y, Yoshimura T, Sugimori H, Tang M
2. 発表標題 Assessment of collagen fiber orientation in mouse femur using UTE signal
3. 学会等名 第50回日本磁気共鳴医学会大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関