

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 3月30日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21500445

研究課題名（和文） 関節構成体の再生医療における測定プローブの開発

研究課題名（英文） Development of the disposable quantitative probe for status of articular cartilage in the regeneration medicine

研究代表者

阿部 信寛 (ABE NOBUHIRO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：80284115

研究成果の概要（和文）：

我々は、軟骨損傷の治療法の有用性を検討するため、関節軟骨の機能評価を目的としたディスプレイな粘弾性測定システムを開発し、その基礎実験及び、関節軟骨評価を行った。シリコンゴムを用いてプローブの弾性測定条件を検討した。牛膝半月板の含水率を指標とすることによって、その粘弾性との相関を開発プローブによりバネ定数として測定した。臨床応用へ向けたヒト変形性膝関節症患者の関節軟骨を開発プローブにより評価した結果、ヒト関節軟骨では健常部に比較し、変性部でバネ定数が減少していた。

研究成果の概要（英文）：

Tissue engineering has been increasingly applied to treat joint diseases that affect components such as the cartilage, ligament and menisci. These components have poor autologous healing, thus tissue transplantation would be applied for this treatment. However, treatment of the cartilage and ligaments requires highly skilled surgeons, and it is necessary to establish a quantitative evaluation method to serve as a surgical aid. It is difficult to measure the mechanical properties of the cartilage because of its viscoelasticity. Therefore, a sensing technology that enables a uniform qualitative evaluation is desired. A diagnostic probe was developed, and the viscoelasticity of cartilage was measured quantitatively over a short period of time. The probe was designed based on the Voight model and is comprised of a piezoelectric actuator, a force sensor, and a contact probe. The stiffness and viscosity coefficients of various samples, such as silicone rubber and bovine meniscus, were measured, and the accuracy of the developed probe was evaluated. Finally, the mechanical properties of human articular cartilage were measured using the developed diagnostic probe.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：関節構成体、再生医療

1. 研究開始当初の背景

近年、再生医療の発展により、細胞組織を体外で増殖し、損傷部位に移植し治療する方法が臨床応用され始め、軟骨損傷に対し、鏡視下骨穿孔術（骨髄細胞誘導）、骨軟骨移植、再生軟骨移植などの治療方法が報告されている。しかし、実際の現場では、再生軟骨形態異常、移植組織の生着不全などが見られ、満足できる臨床成績ではない。治療後の再生軟骨は、組織学的だけではなく、機能的に評価する必要がある。現在の機能的評価法として、超音波などの手法を用いた関節軟骨の定量的測定が行われているが、いまだ十分ではない。治療後の再生軟骨評価については、治療部位の視覚的及び組織的評価が主体であり、関節機能動態に伴って変化する移植組織の強度（弾性）を評価していないことが問題であると考えられる。関節軟骨再生において生じる弾性差は、歪みや剪断を惹起し、変性を促進することは報告されている。したがって部位別に弾性を計測する装置が必要不可欠である。我々は普遍的な使用ができるようにディスプレイな関節軟骨評価装置を開発し、基礎実験ならびに関節軟骨の定量的評価を行った。

2. 研究の目的

本研究の目的は、（1）関節軟骨の硬度を測定するための新規プローブの開発と（2）その機能評価である。

3. 研究の方法

（1）関節軟骨の硬度を測定するための新規プローブの開発

① 測定プローブ先端の作成

生体内での使用を目的としているため、安全性を最も重視し、プローブ先端部の素材選択またはその形状について検討する。

（2）新規プローブの機能評価

① 励振条件の確認

基礎実験として、開発システムならびに島津製作所製バネ定数測定機（SHIMADZU AGS-X）を用いて、シリコンゴムの粘弾性を測定した。

② 測定材料剛性の確認

ヒト体内構成体および対象動物モデルでの構成体の硬度（弾性、張力）とを既存の剛性試験機を用いて比較することによって、測定プローブの条件を検討する。また、本システムと水分含有量との関係を調べるために、牛膝半月板の粘弾性を測定した。そして、臨床応用へ向け、ヒト関節軟骨の粘弾性測定も行った。

②-1 シリコンゴムの粘弾性測定実験

シリコンゴムの粘弾性測定実験では、厚さ5mmのシリコンゴムの硬度を変化させ、開発システム、SHIMADZU AGS-Xを用いてバネ定数を測定した。シリコンゴムの硬度は40、50、60、70（Hs）を用いた。

②-2 牛膝半月板を用いた評価

軟骨の関節症性変化の初期では含水量が増加することや、半月板において含水量の増加が変性につながる事実から、牛膝半月板の含水率を変化させ、開発システムを用いてバネ定数・粘性係数を測定した。含水率は43、45、48、52、53、55（%）を用いた。

②-3 ヒト膝関節軟骨を用いた評価

変形性膝関節症（OA）患者の人工膝関節置換術時に関節軟骨を採取し、本システムを用いて軟骨の肉眼的健全部と変性部のバネ定数を測定した。関節軟骨は大腿骨遠位面、後顆部、脛骨近位面を用いた。

4. 研究成果

（1）関節軟骨の硬度を測定するための新規プローブの開発

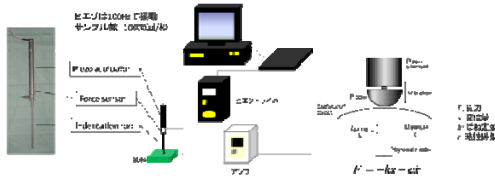
① 測定プローブ先端の作成

本システムはピエゾ機構を有するプローブを

用いて、対象を励振することにより粘弾性を測定するシステムである（図1）。ピエゾ素子で対象を加圧し、その変位量をプローブで計測することで、ばね定数を測定する。また、励振周波数を変化させ、その周波数と変位の値から粘性係数を求めた。

ピエゾは100Hzで振動し、1秒間に10000回のサンプリングが可能である。

図1. 開発した粘弾性測定システム

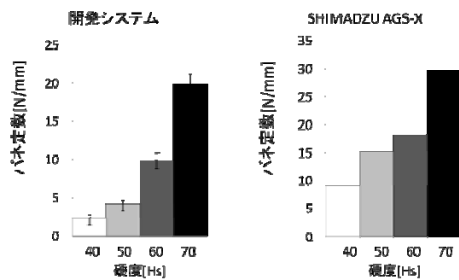


(2) 新規プローブの機能評価

②-1 シリコンゴムの粘弾性測定実験

シリコンゴムでは、試料の硬度 (Hs) 40、50、60、70 に対して、ばね定数 (N/mm) は 2.4、4.2、9.9、19.9 であった。ばね定数計測値に 2 群間で差はあるものの、両システムともシリコンゴムの硬度増加に伴い、ばね定数が増加した（図2）。

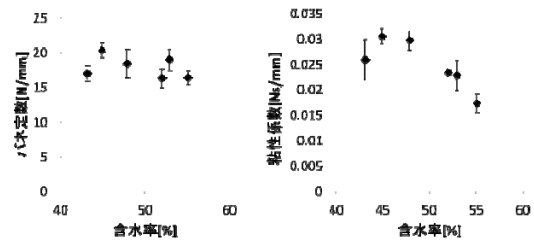
図2. シリコンゴムの粘弾性の評価



②-2 牛膝半月板を用いた評価

牛膝半月板では、試料の含水率 (%) 43、45、48、52、53、55 に対して、粘性係数 (Ns/mm) はそれぞれ、0.026、0.031、0.030、0.023、0.017 であった。含水率の上昇に伴い、開発システムのばね定数・粘性係数は低下し、開発システムは含水量の測定が可能であった（図3）。

図3. 牛膝半月板粘弾性



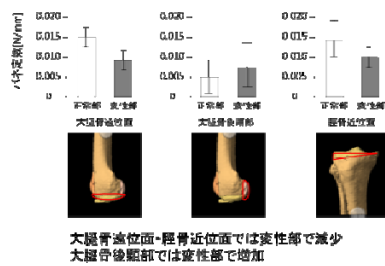
含水率の上昇に伴い、ばね定数・粘性係数が低下

開発システムは含水量変化をとらえることが可能

②-3 ヒト膝関節軟骨を用いた評価

OA 患者の軟骨組織では、肉眼的に健全な軟骨に比較し、変性軟骨ではばね定数、粘性係数とも小さな値を示した（図4）。

図4. ヒト関節軟骨粘弾性



大腿骨遠位面・脛骨近位面では変性部で減少
大腿骨後顆部では変性部で増加

臨床応用への課題の確認

大腿骨遠位面・脛骨近位面では変性部でばね定数が減少し、関節軟骨の評価が可能であったが、大腿骨後顆部では変性部でばね定数が増加した。この原因として、大腿骨後顆部は遠位面に比較して曲率が大きいため、プローブが不安定になる可能性が考えられた。また、大腿骨遠位面・脛骨近位面での組織学的評価とばね定数にも相関を認めた。関節軟骨は湿重量の80%が水分で、プロテオグリカンが水分子を引き込んで膨張し、その膨張圧をコラーゲン繊維網が押さえこんでいる。そして、初期の関節症軟骨では、superficial layerの含水量が増加することが報告されており、含水量の変化を測定できる本システムは初期の関節症性変化をとらえるための有用なツールの一つであると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Takata N, Furumatsu T, Abe N, Naruse K, Ozaki T. Comparison between loose fragment chondrocytes and condyle fibrochondrocytes in cellular proliferation and redifferentiation. Journal of Orthopaedic Science 査読有, Vol. 16, 2011, 589-597
- ② Furumatsu T, Kanazawa T, Yokoyama Y, Abe N, Ozaki T. Inner meniscus cells maintain higher chondrogenic phenotype compared with outer meniscus cells. Connect Tissue Res. 査読有, Vol. 52, 2011, 459-465
- ③ Saiga K, Furumatsu T, Yoshida A, Masuda S, Takihira S, Abe N, Ozaki T. Combined use of bFGF and GDF-5 enhances the healing of medial collateral ligament injury. Biochem Biophys Res Commun. 査読有, Vol. 402(2):329-34. 2010
- ④ Date H, Furumatsu T, Sakoma Y, Yoshida A, Hayashi Y, Abe N, Ozaki T. GDF-5/7 and bFGF activate integrin alpha2-mediated cellular migration in rabbit ligament fibroblasts. J Orthop Res. 査読有, Vol. 28(2):225-31. 2010
- ⑤ Tetsunaga T, Furumatsu T, Abe N, Nishida K, Naruse K, Ozaki T. Mechanical stretch stimulates integrin alphaVbeta3-mediated collagen expression in human anterior cruciate ligament cells. J Biomech. 査読有, Vol. 42(13):2097-103. 2009

[学会発表] (計 2 件)

- ① 横山裕介、阿部信寛、光石衛、杉田直彦ら、

人工膝関節置換術における低侵襲ナビゲーションシステムの使用経験、日本臨床バイオメカニクス学会、2011年11月18-19日、神戸ポートピアホテル

- ② 光石衛、阿部信寛ら、医工連携の実践 最小侵襲人工膝関節置換術支援システム、日本コンピュータ外科学会、2009年11月21-23日、東京大学 鉄門記念講堂

[その他]

ホームページ等

<http://www.okayama-u.ac.jp/user/med/orthop/japanese/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

阿部 信寛 (ABE NOBUHIRO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：80284115

(2) 研究分担者

光石 衛 (MITSUISHI MAMORU)

東京大学・大学院工学系研究科・教授

研究者番号：90183110

杉田 直彦 (SUGITA NAOHIKO)

東京大学・大学院工学系研究科・准教授

研究者番号：70372406

(3) 連携研究者