

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25420755

研究課題名(和文) 応力場を用いた骨質制御による骨力学機能化

研究課題名(英文) Bone mechanical functionalization by control of bone quality using stress field

研究代表者

石本 卓也 (Ishimoto, Takuya)

大阪大学・工学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：50508835

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ラット長管骨への繰り返し力学負荷モデルを用い人為的かつ定量的な一軸荷重を骨に負荷し、骨の適応的变化を解析した。負荷量に応じて、骨質指標として注目している生体アパタイトの優先配向度が変化し、それにともない骨の力学機能が変化した。すなわち、応力場の負荷を起点とした骨質の変化による骨力学機能の最適化に成功した。本研究は、外的力学刺激による骨機能制御法の基礎を築くとともに、従来、骨量の変化でしか議論されてこなかった骨機能適応現象を、骨質、とりわけ骨の異方性微細構造の点から明らかとし、臨床、基礎の両観点から有意義な成果を得た。

研究成果の概要(英文)：Artificial and quantitative load was applied onto the rat long bone utilizing micro-material testing machine and bone's adaptive responses were analyzed. The preferential orientation of apatite which we focusing on as a bone quality parameter changed depending on the magnitude of the applied load, which represents the success in optimizing the bone mechanical function by applying artificial load through the change of bone quality. In the present study, we achieved substantial results from both clinical (controlling bone mechanical function utilizing an external field) and scientific (clarifying new aspect of bone's adaptive response which had previously only been examined with regard to bone mass) aspects.

研究分野：生体材料学

キーワード：骨配向性 骨質 応力場 人為的応力負荷 オステオサイト メカノバイオロジー

1. 研究開始当初の背景

近年の骨疾患の多様化・深刻化と、骨医療の高度化にともない、これまで絶対的指標とされてきた骨量(骨密度)による骨力学機能評価の限界が示され[1]、現在の骨医療は、従来型の骨量に基づく医療から骨質を指向した医療(骨質とは、骨密度以外の骨強度に関わる因子を指す)への転換を求められている。骨質指標の候補として、数多くの新規指標が提案されているものの、現時点で確固たる骨質指標が確立されているとは言えず、骨医療は未だに骨量・骨密度依存を脱却できていないのが現状である。その大きな理由は、骨医療で用いられるために要求されると考えられる3大因子、(1)骨の力学機能を高精度に評価可能であること、(2)低侵襲な手法で測定可能であること、(3)人為的に制御可能であること、をすべて満たす骨質指標が存在しないことである。

こうした中、我々は、結晶学的指標である「生体アパタイトのc軸配向性」に着目し、骨質指標としての可能性を追究してきた[2]。その結果、アパタイト配向度が骨密度よりも優位に骨材質特性(ヤング率、最大応力、靱性)を制御する指標であることを世界に先駆けて明らかにした[3]。骨密度が材質特性の変動をわずか50%程度しか説明できないのに対し、配向性は90%近くを説明することが可能であり、配向性が骨量・骨密度以上に骨評価に重要であることを証明した(H20年度若手研究(スタートアップ)の成果)。加えて、低リスクで配向性解析を可能とする、*in vivo*低侵襲型配向性解析法を既に我々は確立している(H21~22年度若手研究(B)の成果)。このように、配向性は前述の3大要因のうち2項目を実現しており、臨床への導入に対する期待が高まっている。したがって、残る1項目、人為的な配向性の制御法の確立を早急に実現すべき課題と位置づけて推進する必要があった。

2. 研究の目的

これまでの研究から、応力場の負荷が、アパタイト配向性の最も重要な制御因子の1つとして示唆されていた[2, 3]。そこで、人為的な応力場印加による配向化現象の発現の可能性を検証するとともに、応力場による骨配向化を介した骨強度の最適化制御の実現を目指して研究を推進した。

3. 研究の方法

我々が得意とする材料工学的手法を駆使した。人為的負荷は、麻酔下のラット前肢骨に対して金属疲労試験機を適用し、一定条件にて最大8週間の繰り返し荷重負荷を行った。負荷の波形はharversine波とした。その際、生理的状态の負荷量を上回る条件にて荷重負荷した。人為的荷重下で形成した骨組織に対して、微小領域X線回折法にて、骨質指標としての骨長軸に沿ったアパタイトc軸優先

配向性を定量解析した。さらに、ナノインデントーション法を用いて微小部でのヤング率を解析した。なお、動物実験に係る全てのプロトコルは、大阪大学大学院工学研究科動物実験委員会の承認の下で実施した。

4. 研究成果

(1) 人為的応力負荷モデルの構築

金属疲労試験機を用い、ラット前肢骨を特殊設計治具で挟み込み、骨軸方向への圧縮荷重を負荷した(図1)。これにより、尺骨の形状に基づき曲げモーメントが発生し、最大圧縮応力が負荷した骨幹中央部付近を注目部位とし解析した。



図1 ラット前肢骨への疲労試験機を駆使した人為的荷重負荷モデル。

図2は、人為的負荷による骨表面での骨形成の様子をCT画像にて示す。数100 μm の厚さの新生骨の形成が認められた(右下図)。新生骨形成量は、負荷の大きさと正相関を示し、これは従来の報告[4]と一致した。したがって、意図した人為的負荷モデルの構築に成功した。

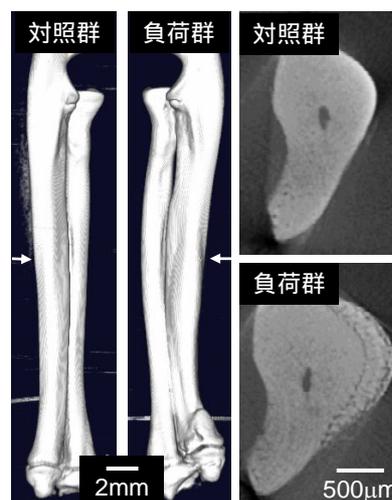


図2 人為的負荷による骨形成。人為的負荷に寄り骨幹中央部に新生骨が形成された。

さらに、骨形成部位は曲げモーメントによる最大応力発生部位に限定され、結果として断面二次モーメントの増加は極めて異方的

であった。すなわち、人為的負荷に対して骨構造を異方的に変化させることで、骨は機能適応を果たした。

(2) 人為的応力負荷がアパタイト配向性に及ぼす影響の定量的解明

微小領域X線回折法ならびにナノインデントーション法による微小部での骨解析は、人為的荷重下で形成された骨部位に限定しての解析を可能とした。

人為的負荷により形成された骨の内部の微細構造を解析すると、主応力方向である骨長軸に沿ってアパタイトが一軸優先配向性を示し、定量解析より、その配向度は負荷量に依存した。すなわち、既存骨よりも高い配向度を有する骨が、生理的荷重を超える人為的荷重の負荷により形成されることが実証された。さらに、配向度の変化率は骨量増加よりも顕著であった(図3)。

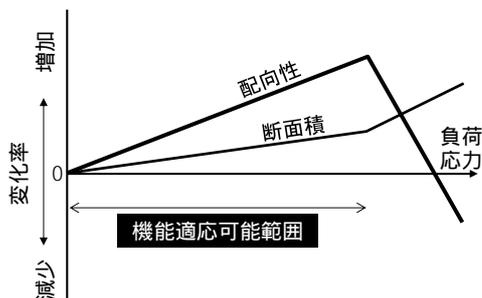


図3 ラット尺骨へ的人為的負荷モデルにおける配向性と断面積の変化率。横軸の原点は生理的負荷によるひずみ範囲の上限値を想定している。配向性変化による機能適応には一定の範囲が存在する。

しかし、負荷量が一定値を超えると、骨量は単調増加を示す一方で、配向性と力学機能は著しく低下し、適応的变化が破綻した。つまり、配向性の上昇による機能適応には上限値が存在することが明らかとなった。この適応的变化の破綻が生じた骨においては、骨基質中での微小損傷の形成が確認されたことから、骨の適応的变化を司るメカノセンサーである骨細胞そのものや、骨細胞同士をつなぐネットワーク構造の破壊が示唆された。このように、骨量変化からは直接判断できない微細構造の変化が生じていることが理解された。

(3) アパタイト配向性が骨力学機能に与える影響

配向性解析と同一部位にて、微小部でのヤング率を解析することで、人為的負荷による配向性変化が骨の力学機能に及ぼす影響について明らかにした。高配向化した新生骨部は、既存骨と比較して有意に高いヤング率を示し、本研究の目標であった応力場負荷による骨質制御による骨力学機能化が達成された。さらに、ヤング率は配向度と極めて強い

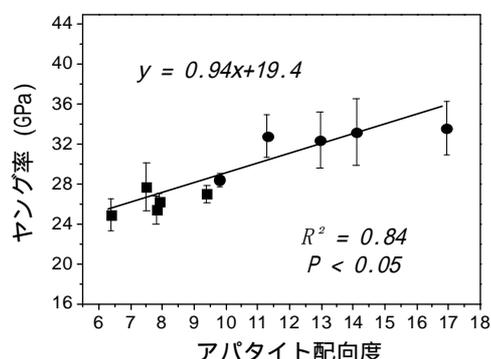


図4 人為的負荷下で形成された新生骨部と既存骨におけるヤング率と配向性の相関。

正の相関関係を示し、ヤング率が配向性によって制御されることが示された。

(4) おわりに

本研究で、人為的応力場を用いて骨中の生体アパタイト配向性を人為的に制御し、最終的には骨機能を制御することに成功し、当初の目的を果たした。本成果は、薬剤を用いる骨医療とは異なる観点から骨の機能最適化を実現する重要な知見となることが期待される。同時に、これまで長年にわたり、外的負荷に対する骨の適応現象に関しては骨量の変化のみで議論されてきたが、本研究にて、骨材質の異方性を規定するアパタイト配向性の変化に基づく機能適応の新たな側面の存在を示すことができた。骨に対する負荷が異方的であることを考えれば、異方性を反映しないパラメータである骨量よりも、異方性指標である配向性によって機能適応が達成されることは極めて合理的である。配向性の変化により、骨量を変化させることなく特定方向への強度を変化させることが可能である。したがって、配向性の変化こそ、機能適応の本質であると期待している。今後は、応力負荷を起点とする配向化現象のメカニズム解明を進めていく必要がある。

<引用文献>

- [1] D.A. Chakkalakal et al., Bone, 25, 321-332, 1999.
- [2] T. Nakano et al., Bone, 31, 479-487, 2002.
- [3] T. Ishimoto et al., J Bone Miner Res, 28, 1170-1179, 2013.
- [4] T. Sugiyama et al., J Bone Miner Res, 27, 1784-1793, 2012.

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)

石本卓也, 中野貴由: アパタイト配向性と骨のメカノバイオロジー, バイオマテリアル 生体材料, Vol.34,

pp.138-143 (2016), 査読有.
T. Ishimoto, K. Kawahara, A. Matsugaki, J. Wang, H. Kamioka, T. Nakano: Analysis of osteocyte morphology in terms of sensation of in vivo stress applied on bone, Materials Science Forum, Vol.783-786, pp.1265-1268 (2014), 査読有, doi: 10.4028/www.scientific.net/MSF.783-786.1265.
石本卓也, 中野貴由: 生体アパタイトのc軸配向度は骨の力学機能を支配する, バイオマテリアル 生体材料, Vol.33, pp.35-37 (2015), 査読有.
石本卓也, 中野貴由: 骨配向性を基軸にした骨異方性組織誘導と骨形態計測, 骨形態計測学会雑誌, Vol.24, pp.41-47 (2014), 査読有.
J. Wang, T. Ishimoto, T. Nakano: Preferential orientation of collagen/biological apatite in growing rat ulna under an artificial loading condition, Materials Transactions, Vol.54, pp.1257-1261 (2013), 査読有, doi: 10.2320/matertrans.ME201314.

〔学会発表〕(計 15 件)

T. Ishimoto, A. Murakami, T. Nakano: Change in preferential alignment of bone apatite in response to artificially altered principal strain in regenerated rat ulna, PRICM9, August 4, 2016, Kyoto International Conference Center, Kyoto (Japan).
石本卓也, 中野貴由: 応力応答性に骨質を支配するアパタイト結晶配向性, 日本補綴歯科学会第 125 回学術大会, 2016 年 7 月 8 日, 石川県立音楽堂(金沢・石川).
石本卓也, 門田耕平, 中野貴由: 骨への強制的荷重負荷が骨形態・配向化に与える影響, 第 36 回日本骨形態計測学会, 2016 年 6 月 24 日, 朱鷺メッセ(新潟・新潟).
T. Ishimoto, J. Wang, K. Kadota, T.W. Kim, T. Nakano: Apatite orientation and material property of bone are enhanced by artificially elevated load (invited), Thermec ' 2016, June 3, 2016, Graz Convention Center, Graz (Austria).
村上愛実, 石本卓也, 中野貴由: 骨再生部への強制応力負荷による再生骨配向化, 日本金属学会 2015 年春期(第 156 回)大会, 2015 年 3 月 20 日, 東京大学(文京区・東京).
石本卓也, Kim TeaWan, 藤谷渉, 中野貴由: 卵巣摘出ラット尺骨への強制応力負荷によるアパタイト配向化, 日本金属学会 2015 年春期(第 156 回)大会, 2015

年 3 月 20 日, 東京大学(文京区・東京).
石本卓也, 中野貴由: 骨配向化ならびに力学機能との相関(招待講演), 第 22 回顎顔面バイオメカニクス学会大会, 2014 年 11 月 22 日, UK デンタル長崎店(長崎・長崎).
石本卓也, 王俊, 中野貴由: ラット尺骨への強制的応力負荷に対する骨量・骨密度・配向性変化, 第 36 回日本バイオマテリアル学会大会, 2014 年 11 月 18 日, タワーホール船堀(江戸川区・東京).
村上愛実, 石本卓也, 中野貴由: ラット長管骨再生部の骨配向化に対する人為的応力負荷の影響, 日本金属学会 2014 年秋期(第 155 回)大会, 2014 年 9 月 26 日, 名古屋大学(名古屋・愛知).
Jun Wang, T. Ishimoto, T. Nakano: Effect of strain magnitude on biological apatite orientation and mechanical functions in rat ulna, 日本金属学会 2014 年春期(第 154 回)大会, 2014 年 3 月 23 日, 東京工業大学(目黒区・東京).
J. Wang, T. Ishimoto, T. Nakano: Bone adaptation to artificially-elevated strain through alteration of anisotropy in collagen and biological apatite micro-organization, 日本金属学会 2013 年秋期(第 152 回)大会, 2013 年 9 月 19 日, 金沢大学(金沢・石川).

〔図書〕(計 1 件)

石本卓也(共同執筆): 日本金属学会, バイオマテリアル研究の最前線(成島尚之, 中野貴由 編集), 2015, pp.45-46, 209-210, 215-216.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石本卓也 (ISHIMOTO Takuya)
大阪大学・大学院工学研究科・講師
研究者番号: 5 0 5 0 8 8 3 5

(3) 連携研究者

中野貴由 (NAKANO Takayoshi)
大阪大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号: 3 0 2 4 3 1 8 2