

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007～2010

課題番号：19200035

研究課題名（和文） 階層的複合構造特性に基づいた生体内骨組織応力検出法

研究課題名（英文） Stress Detection in Bone tissue with Hierarchical Composite Structure

研究代表者

但野 茂 (TADANO SHIGERU)

北海道大学・大学院工学研究院・教授

研究者番号：50175444

研究成果の概要（和文）：

骨組織は、無機質成分のハイドロキシアパタイト（HAp）結晶やコラーゲン分子のナノレベルから、皮質骨、海綿骨といった組織構造のマクロレベルまで非常に複雑な階層構造を示す。本研究では、ナノレベルのHAp結晶変形からマクロな骨組織レベルの応力検出手法を考案した。負荷時による階層構造特性の実験手法を提案し、その特徴を表示する階層構造パラメータを整理した。さらに、生体内計測を想定した残留応力計測法を開発し、無負荷でも骨組織には各部位によって特徴的な残留応力が生じていることを示した。

研究成果の概要（英文）：

Bone shows a hierarchical structure from a nano scale of hydroxyapatite crystal and collagen molecular to a macro scale of cortical and cancellous bone. This work proposed a new method of detecting stress of tissue level using the information of HAp crystal deformation. X-ray diffraction (XRD) experimental procedure was developed to measure the characteristics of hierarchical structure. Some structural parameters were introduced to represent these characteristics. Also, the XRD method was applied to detect residual stress in bone, and the stress was observed at various regions in animal extremities.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	15,800,000	4,740,000	20,540,000
2008年度	9,000,000	2,700,000	11,700,000
2009年度	7,500,000	2,250,000	9,750,000
2010年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
年度			
総計	37,000,000	11,100,000	48,100,000

研究分野：

バイオメカニクス、医療福祉工学

科研費の分科・細目：

人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：

バイオメカニクス、生体骨組織、応力検出、X線回折、皮質骨、ハイドロキシアパタイト、結晶配向性

1. 研究開始当初の背景

(1) 我々の骨組織は日常的に力学的環境に曝され、常に内部応力が生じている。それには、運動時の繰返し応力や動的応力、重力下による静的応力、さらには骨組織リモデリングのための残留応力等が考えられる。これらの応力を非侵襲に測定できれば、骨組織応力の生理学的機能解明につながり、骨折等の骨疾患の診断や治療に有益な生体情報を提案することとなる。しかしながら、国内外を見ても生体内骨組織応力を非侵襲に測定した例はない。また測定をめざした研究も知らない。一方、骨構造の持つ力学的特性に対する興味から多くの力学研究が行われた。数値計算で骨組織内の応力を求める研究である。いずれも実験的検証が不可能なため、その価値は常に議論となった。骨組織の応力状態を生体内で測定する意義は学術的にも臨床的にも非常に大きいことが伺える。

(2) 研究代表者(但野)は、長年骨組織の力学的応答に関するバイオメカニクスの研究に従事してきた。脊椎応力解析、脊柱側弯症シミュレーション、人工股関節大腿骨リモデリング解析などがある。これら数値解析の経験から、骨組織応力測定的重要性を認識した。また骨リモデリングが力学的環境に適応した現象とされることから、この現象を実証する点からも生体内骨組織の応力測定を着想した。

(3) 骨組織内の応力を測定するためには、骨組織の無機質成分であるハイドロキシアパタイト(HAp)が結晶構造を呈することから、X線回折法(XRD)の利用を思い当たった。そして、結晶構造が生体HApに近いと思われるセラミックス、さらには人工HApのX線応力測定法を開発した。これらの手法を生体骨組織に適用した。骨組織には無負荷でも残留応力が存在することを牛大腿骨等の実験で確認した。これは定性的な測定であった。通常のX線応力測定では、格子面回折角を回折強度のピーク位置から求めるが、生体HApの場合、結晶性が低くピーク位置の判定が困難である。そのため回折強度プロファイル全体の波形形状を用いた最適ひずみ計算法を提案した。また、X線で測定されたHAp格子ひずみから、コラーゲン(Col)との複合体である骨組織の異方性応力状態を求めなければならない。そのため、格子ひずみから組織ひずみを算出する手法や組織ひずみから組織応力を推定する手法を提案した。

(4) これまでの研究成果に基づき、生体骨組織応力検出法へと研究を発展させるための課題が整理された。まずは骨組織から回折する弱いX線の検出方法の精度検討である。これまでの基礎研究では、骨試料を厚さ1mm以下の薄板状に加工し、X線を透過させた透過回折X線を測定していた。これだと in tact

な骨には適用できず、汎用的な測定法にはならない。骨試料表層(皮質骨)の回折X線を反射側で検出する方法を考案する必要がある。さらに、回折角低角度の測定が可能で、同時に複数の格子面情報が得られること、測定が試料形状にとられないこと、試料をスキャンして比較的広範な領域を連続的に測定できること、すべての測定解析アルゴリズムが自動化できること、などが要求される。また、外的負荷時による骨組織の階層構造特性に基づいた骨組織応力/ひずみとHAp結晶ひずみの関係をより詳細に調査する必要がある。

2. 研究の目的

本研究では、HApとColの階層的複合構造である生体皮質骨に生じた応力を非侵襲に測定する原理および手法を提案する。まず、HAp結晶格子ひずみをX線回折法で高精度に測定する。そしてこのナノレベルのひずみから皮質骨の特有な階層的複合構造特性を考慮した組織レベルのマクロひずみを推定する。測定精度を検証するため、HAp結晶の変形状態のみではなく、基質であるColの超高分子状態の変形特性を測定する必要がある。中性子散乱法を用いて、Colのナノ変形と組織ひずみの関係を求める。このことにより構成要素のHApおよびColと骨組織ひずみとの関係を表現する数理モデルを提案する。このモデルを用いれば、HApひずみのみから骨組織ひずみが高精度に推定できる。次に組織ひずみから異方性組織応力を算出する構成式を作る。また回折X線画像から照射位置の平面(二次元)ひずみ成分を算出する手法を考案する。以上の研究を4年間で実施する。

3. 研究の方法

(1) HAp結晶構造解析：牛大腿骨試料を用いて、皮質骨HApのX線極点図を測定し、結晶配向性を部位別に評価する。そして、HAp結晶方位とX線回折原理の関係から、変形状態の回折面と測定結晶格子ひずみの関係を構造解析的に求める。

(2) イメージングプレート(IP)による測定：IPを用いて、皮質骨表面の平面ひずみ(二次元ひずみ成分)を高精度に検出する方法を検討する。また、IPによる回折X線強度プロファイルから高精度に最適回折角を測定する手法を検討する。

(3) 回折プロファイル形態法によるひずみ測定：骨組織内HApは結晶性が低いため、回折強度が低く、回折波形がなだらかな形状となる。そのためピーク位置を特定できない。そこで、IPによる回折波形の全体形状からひずみを計算する手法を提案する。

(4) 骨組織ひずみ関係式：X線回折で測定されたHAp結晶格子ひずみから骨組織ひずみ

を算出する手法を考案する。これには結晶性程度を分散係数を用いた結晶化度で表す。そして HAp と Col の配置、体積比、各弾性率をパラメータとし、マクロ変形と HAp 結晶ひずみの関係をシミュレーションする。

(5) 中性子散乱による HAp, Col ひずみ測定：北大加速器パルス中性子源実験施設を利用し、骨組織の中性子回折・散乱実験を行う。

(6) 変形中の骨組織成分挙動と結晶化度依存異方性構成式：引張負荷中における骨組織 HAp-Col 複合体のナノ変形と HAp 結晶のナノひずみを同時に測定する。これは、X線照射中に微小引張試験を行う。この装置は試作し、マクロ変形はひずみゲージで、ナノひずみはX線で測定する。そして、結晶化度依存異方性構成式の材料パラメータとの対応をとる。

(7) 表層面応力成分算出法：IP で測定されたひずみ成分から皮質骨表層面の二軸応力成分を高精度に算出するため、X線の最適な入射強度と入射角を決定する。得られたひずみ成分から、異方性構成式を用いて骨組織の応力成分を求める。これにより、生体骨内応力分布の基本測定方法が確立したことになる。

(8) 骨膜保存および皮膚保存骨試料の測定：骨膜上からの XRD 測定を行う。骨膜は軟組織のため、HAp から回折する X線波長に大きな影響を及ぼさないと考えられるが、その測定精度と実験方法を検討する。さらに皮膚を保存した家兎頸骨で同様な X線応力測定手法の検討を行い、その測定条件を整理する。

(9) 生体骨の残留応力測定：骨組織内の残留応力測定手法を開発する。その精度と測定条件を求め、骨組織の部位による特徴を探る。

4. 研究成果

(1) 皮質骨のナノレベルにおける力学的特徴を明らかにするため、XRD による mineral fraction, osteon 配向、結晶 c-軸方位等の計測手法を開発し、牛腰椎骨孔 (foramen) 周囲の mineral 結晶と力学的環境の関係を明らかにした。骨孔周囲では円周上に mineral 結晶が配向し、外的な負荷に対し、応力集中を分散する構造を示していることを報告した。(論文 No. 14, 16)

(2) 皮質骨の骨組織ひずみと HAp の結晶ひずみの関係のための引張負荷実験手法を開発した。マクロレベルの骨組織ひずみを HAp 結晶(002), (211), (213)格子面の平均ひずみと組織弾性率との関係式を提案した。骨軸方向とそれと垂直の骨円周方向に対する極端な骨異方性が考慮されている(論文 No. 15)

(3) IP による XRD 画像解析法を開発し、mineral 結晶方位の二次元画像である Debye リングを求めた。負荷によるリングゆがみ状態から mineral 結晶の格子面変形が算出される関係式を示した。この手法を用いて、高精

度な最適回折ピーク決定手法を調査した。我々の提案した segmental-shift 法が IP に対してもっとも高精度であることが確認された。

(論文 No. 13)

(4) XRD の IP による二次元ひずみ分布計測手法を用いて、牛大腿骨 foramen 周囲の結晶方位分布を示し、さらに残留ひずみ分布を確認した。その残留ひずみは mineral 結晶程度と相関が見られた。(論文 No. 10)

(5) 皮質骨内 mineral 結晶の変形特性と nanostructure の構造的異方性の関係を調査する XRD 実験系を開発した。mineral 結晶の程度は degree of orientation (DO) を定義し、定量化した。引張負荷時の骨異方性と mineral 結晶の関係を明らかにした。(論文 No. 8)

(6) 皮質骨の力学的特性と mineral 成分と collagen 成分の関係を調査した。mineral の脱灰処理を施し、体積分率と X線吸収係数、透過 X線強度の異なる骨試料を作成し、引張試験による弾性率、破断強度との関連を確認した。(論文 No. 7)

(7) XRD による皮膚組織直下の Ti 応力検出法を開発した。Ti からの回折 X線は、皮膚組織による吸収が大きく、各種 X線ターゲットによる検出波形特性を調査し、Mo-K α が最適なことを確認した。これにより皮膚に埋め込まれた Ti のひずみが計測された。(論文 No. 5)

(8) XRD $\sin \phi$ 2 法による骨組織残留応力計測手法を考案し、牛大腿骨の残留応力分布を確認した。骨軸方向には引張りの残留応力が生じることや残留応力の分布は近位、中位、遠位で異なることが確認された。(論文 No. 4, 11)

(9) XRD $\sin^2 \phi$ 法による骨組織残留応力計測手法を考案し、家兎四肢の残留応力分布と Osteon 構造体による microstructure との関連を明らかにした。後足では 210MPa、前足では 149MPa の平均残留応力が認められた。大腿骨、上腕骨、撓尺骨では前方が後方より大きな残留応力を示した。脛骨では前方が後方より高位だった。また、Osteon 密度と残留応力には正の相関が認められた。(論文 No. 2)

(10) Spring-8 のシンクロトロン放射光を用いた骨組織深層部残留応力計測方法を開発した。牛大腿骨骨幹部表層部骨軸方向には引張りの残留応力が、内部には圧縮の残留応力が観察された。特に前方部位表層では 24.7MPa の引張残留応力が、骨幹部内部 2~10mm の位置では平均-9.0MPa の圧縮残留応力が測定された。骨断面の残留応力分布を非破壊的に計測した例をはじめて示した。(論文 No. 1)

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 16 件)

1. Yamada, S., Tadano, S., Todoh, M., Fujisaki, K.: Residual Stress Distribution in the Bovine Femoral Diaphysis Measured by Synchrotron, Journal of Biomechanical Science and Engineering, JSME, 6-2, (2011), pp.114-124 (査読有)
 2. Yamada, S., Tadano, S., Fujisaki, K.: Residual Stress Distribution in the Rabbit Extremities, Journal of Biomechanics, 44-7, (2011), pp.1285-1290 (査読有)
 3. 荻田 平・但野 茂・東藤正浩・金岡 優: ハイドロキシアパタイト焼結体のレーザー接合性, 日本機械学会論文集, 77-774, (2011-3), pp. 537-544 (査読有)
 4. Yamada, S., Tadano, S.: Residual Stress Around the Cortical Surface in Bovine Femoral Diaphysis, Journal of Biomechanical Engineering, ASME, 132-4, (2010), pp.0445031-0445034 (査読有)
 5. Fujisaki, K., Tadano, S.: Strain Measurement of Pure Titanium Covered With Soft Tissue Using X-Ray Diffraction, Journal of Biomechanical Engineering, ASME, 132-3, (2010), pp.0310041-0310045 (査読有)
 6. Sasaki, N., Furusawa, K., Fukui, A.: Elementary Process of Mechanical Adaptation of Tissues: Response of Cells to Mechanical Stimulation, Journal of the Japanese Bio-Electrical and Physical Stimulation Research Society, 24, (2010), pp.11-16 (査読有)
 7. Todoh, M., Tadano, S., Giri, B., Nishimoto, M.: Effect of Gradual Demineralization on the Mineral Fraction and Mechanical Properties of Cortical Bone, Journal of Biomechanical Science and Engineering, JSME, 4-2, (2009), pp.230-238 (査読有)
 8. Giri, B., Tadano, S., Fujisaki, K., Sasaki, N.: Deformation of Mineral Crystals in Cortical Bone Depending on Structural Anisotropy, Bone, 44-6, (2009), pp.1111-1120 (査読有)
 9. Sasaki, N., Imai, T., Hashimoto, A., Yasuda, H.: Effect of Pericellular Matrix Formation by Chondrocytes Cultured in Agarose gel on the Viscoelastic properties of Agarose gel matrix, Journal of Biorheology, 23-2, (2009), pp.95-101 (査読有)
 10. Giri, B., Tadano, S., Fujisaki, K., Todoh, M.: Understanding Site-specific Residual Strain and Architecture in Bovine Cortical Bone, Journal of Biomechanics, 41-15, (2008), pp.3107-3115 (査読有)
 11. 山田悟史, 但野 茂, 東藤正浩: X線回折 $\sin^2\psi$ 法による牛大腿骨骨幹部の残留応力測定, 日本機械学会論文集 A 編, 74-742, (2008), pp. 894-900 (査読有)
 12. Sasaki, N., Nozoe, T., Nishihara, R., Fukui, A.: Effect of Mineral Dissolution from Bone Specimens on the Viscoelastic Properties of Cortical Bone, Journal of Biomechanics, 41-16, (2008), pp.3511-3514 (査読有)
 13. Tadano, S., Giri, B., Sato, T., Fujisaki, K., Todoh, M.: Estimating Nanoscale Deformation in Bone by X-ray Diffraction Imaging Method, Journal of Biomechanics, 41-5, (2008), pp.945-952 (査読有)
 14. Giri, B., Tadano, S.: Biological Adaptation to Stress Concentration: A Case of Natural Hole in Bone, Journal of Nepal Engineering Association, 1, (2007), pp.31-40 (査読有)
 15. Fujisaki, K., Tadano, S.: Relationship between Bone Tissue Strain and Lattice Strain of HAp crystals in Bovine Cortical Bone Under Tensile Loading, Journal of Biomechanics, 40-8, (2007), pp.1832-1838 (査読有)
 16. Giri, B., Tadano, S., Fujisaki, K., Todoh, M.: Microstructure of Bone around Natural Hole in Bovine Lumbar Vertebra, Journal of Biomechanical Science and Engineering, JSME, 2-1, (2007), pp.1-11 (査読有)
- [学会発表] (計 75 件)
(国際会議 23 件、国内学会等 52 件、内招請講演 5 件)
1. Fujisaki, K., Salmingo, R., Tadano, S., Abe, Y., Ito, M.: Corrective Force Analysis in Spinal Rods Fixation for Scoliosis Deformity, 2011 Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS), Long Beach, USA, (2011/1/13-16)
 2. Yamada, S., Tadano, S., Todoh, M., Fujisaki, K.: Residual Stresses at the Cortical Bone of the Rabbit Extremities, World Congress on Biomechanics WCB 2010, Singapore, (2010/8/4)
 3. Giri, B., Tadano, S., Fujisaki, K.: Mechanical Response of Mineral Crystallites as a Tool to Predict Fracture Risks in Bone, World Congress on Biomechanics WCB 2010, Singapore, (2010/8/4)
 4. Fujisaki, K., Tadano, S.: Stress Measurements of Implanted Ti Plate Covered with Skin Like Materials, World Congress on Biomechanics WCB 2010, Singapore, (2010/8/4)
 5. Kodaki, Y., Yamada, S., Fujisaki, K., Tadano, S.: Deformation and Orientation of HAp Crystals at Osteon-Scale Structure in Bovine Cortical Bone, World Congress on Biomechanics WCB 2010, Singapore, (2010/8/2)
 6. Todoh, M., Tadano, S., Maeshima, T.: Anisotropic Effect of Collagen Denaturation on Mechanical Properties of Bone Tissue,

- World Congress on Biomechanics WCB 2010, Singapore, (2010/8/2)
7. Tadano, S.: Stress Measurements of Cortical Bone with Hierachial Tissue Structure (Keynote Speaker), The 2nd KIST Bionics Symposium and Annual Meeting of Korean Society of Biomechanics 2009, KIST, Seoul, (2009/11/3)
 8. Fujisaki, K., Tadano, S., Todoh, M., Giri, G.: Effect of Skin and Subcutaneous Tissue on X-ray Strain Measurement of Ti Implant, World Congress 2009 on Medical Physics and Biomedical Engineering, Munich, Germany, (2009/9/7).
 9. Yamada, S., Tadano, S., Todoh, M., Fujisaki, K.: Residual Stress around Outer Cortical Region in Bovine Femoral Diaphysis, World Congress 2009 on Medical Physics and Biomedical Engineering, Munich, Germany, (2009/9/7).
 10. Tadano, S., Giri, B., Fujisaki, K., Todoh, M.: Relationship between Tissue Stress and HAp Lattice Strain in Bovine Cortical Bone (Invited Speaker), 3rd Switzerland-Japan Workshop on Biomechanics, Engelberg, Switzerland, (2009/9/1).
 11. Todoh, M., Tadano, S.: Effect of Collagen Denaturation on Mechanical Properties of Bone, 3rd Switzerland-Japan Workshop on Biomechanics, Engelberg, Switzerland, (2009/9/1).
 12. 但野 茂: 皮質骨ミクロ構造と異方性応力 (基調講演) : 日本機械学会機械力学・計測制御部門 Dynamics & Design Conference 2009、北大、札幌, (2009/8/3)
 13. Giri, B., Tadano, S., Fujisaki, K., Todoh, M.: Characterization of Mineral Crystallites Deformation Under Tensile Loading, 4th Asian Pacific Conference on Biomechanics, Christchurch, Newzealand, (2009/4/14).
 14. Todoh, M., Tadano, S., Imari, Y.: Effect of Heat Denaturation of Collagen Matrix on Bone Strength, 13th International Conference on Biomedical Engineering, Singapore, (2008/12/8-12).
 15. Fujisaki, K., Tadano, S., Todoh, M., Katoh, M., Satoh, R.: Streaming Potential of Bovine Spinal Cord under Visco-elastic Deformation, 13th International Conference on Biomedical Engineering, Singapore, (2008/12/8-12).
 16. Furusaka, M. : Focusing Small-angle Neutron Scattering Instrument and Its Applications, China, (2008/11/9)
 17. Furusaka, M. : Controlling Uncontrollable Neutrons, ASIA SCIENCE SEMINAR ON "Frontier Science at High-Intensity Proton Accelerators", China, (2008/10/24).
 18. 但野 茂: 生体骨組織応力検出法 (招待講演), 第3回次世代医療システム産業化フォーラム 2008, 大阪商工会議所, 大阪 (2008/6/13).
 19. Tadano, S., Yamada, S., Todoh, M.: Residual Stress Measurement around Cortical Region in Bovine Femur Using the X-ray Diffraction, 8th International Symposium on Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering, Porto, Portugal, (2008/2/29).
 20. Fujisaki, K., Tadano, S., Giri, B.: X-ray Diffraction Imaging System to Measure Strain of HAp Crystals in Bone, 8th International Symposium on Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering, Porto, Portugal, (2008/2/29)..
 21. Tadano, S., Fujisaki, K.: Tissue Strain Measurements from HAp Crystal Deformation in Bovine Cortical Bone, Second International Conference on Mechanics of Biomaterials & Tissues, Lihue, Kauai, Hawaii, USA, (2007/12/9-13).
 22. 但野 茂: 生体 HAp の結晶構造に基づいた骨組織応力検出法 (特別講演), 顎顔面バイオメカニクス学会第 15 回学術大会, 札幌, (2007/8/25-26)
- [図書] (計 0 件)
- [産業財産権]
- 出願状況 (計 3 件)
- 名称 : 高精度電磁波回折角測定装置
 発明者 : 藤崎和弘・但野 茂
 権利者 : 北海道大学
 種類 : 特許
 番号 : 特願 2010-000167
 出願年月日 : 2010 年 1 月 4 日
 国内外の別 : 国内
- 取得状況 (計 0 件)
- [その他]
 なし
6. 研究組織
- (1)研究代表者
- 但野 茂 (TADANO SHIGERU)
 北海道大学・大学院工学研究院・教授
 研究者番号 : 5 0 1 7 5 4 4 4
- (2)研究分担者
- 佐々木 直樹 (SASAKI NAOKI)

北海道大学・大学院理学研究院・教授

研究者番号：40142202

白土 博樹 (SHIRATO HIROKI)

北海道大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：20187537

古坂 道弘 (HURUSAKA MICHIHIRO)

北海道大学・大学院工学研究院・教授

研究者番号：60156966

東藤 正浩 (TODOH MASAHIRO)

北海道大学・大学院工学研究院・准教授

研究者番号：10314402

藤崎 和弘 (FUJISAKI KAZUHIRO)

北海道大学・大学院工学研究院・助教

研究者番号：90435678