

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H00827

研究課題名(和文)骨劣化を生じない新骨機能化インプラントロジー

研究課題名(英文)New bone implantology for seeking implants that does not cause bone degradation

研究代表者

石本 卓也 (Ishimoto, Takuya)

富山大学・学術研究部都市デザイン学系・教授

研究者番号：50508835

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,600,000円

研究成果の概要(和文)：骨中の骨細胞が骨に生じる異方的なひずみ場を効率的に感知するために形態の異方的を呈すること、ひずみ場の異方性が低減した場合には、骨細胞の異方性も低減し、異方性のひずみ場を感受する機能が劣化すること、それに伴いひずみ方向に沿った骨基質の配向性が劣化することを明らかにした。加えて、インプラント埋入時には、骨吸収のみならず、ひずみ遮蔽下で新たに形成される骨の基質配向が、元から劣化していることが明らかになった。以上より、健全な骨を維持するインプラントの実現には、ひずみ遮蔽状態をできるだけ回避するとともに、積極的にひずみを負荷するような仕組みをインプラントに導入するという戦略が不可欠であることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨配向性を指標とすることで、インプラント埋入下での骨の強度が、骨の量的変化(骨密度の低下や骨萎縮)から予測される以上に劣化していることが明らかになった。インプラント開発が骨配向性に基づいて行われることで、骨の機能の劣化を本質的にもたらさないインプラントの獲得につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Important fundamental findings for development of implants without causing bone degradation due to strain shielding have been obtained. We found that osteocytes in bone exhibit anisotropy of morphology to efficiently sense the anisotropic strain field produced in bone, that when the anisotropy of the strain field is reduced, the anisotropy of osteocytes is also reduced and their ability to sense the anisotropic strain field is degraded, and that the resulting degradation of bone matrix orientation along the strain direction. In addition, it was found that not only bone resorption but also bone matrix orientation, which is newly formed under strain shielding, was originally degraded under the use of metal implant. In conclusion, we found that a strategy to avoid strain shielding as much as possible and to introduce a mechanism to actively load strain to the implant is indispensable to realize implants that maintain healthy bone.

研究分野：金属組織学、生体材料学

キーワード：ひずみ遮蔽 インプラント 骨細胞(オステオサイト) 骨質

### 1. 研究開始当初の背景

金属インプラントは、変形性関節症や骨折など様々な要因で低下・喪失した骨の機能を補助・代替するために欠かせない医療デバイスである。ところが、金属インプラントの存在がかえって骨に悪影響を及ぼし、さらに重篤な骨機能劣化を生じさせる可能性がある。本研究では、骨機能劣化を生じさせないインプラントの実現に向けた研究を行う。

インプラントによる骨劣化の主要な要因の1つが、インプラント埋入にともなう骨への「ひずみ遮蔽」である[1]。骨は元々、力学的環境に応答して自らのマクロ・ミクロ構造を鋭敏に改変し、強度を最適化する、「自己調整能力」とも呼ぶべき優れた機能を有する、材料学的に極めて興味深い生体器官である。力学的負荷の増大は、骨強度の向上につながる一方で、この優れた能力ゆえに、力学負荷が低減した、ひずみ遮蔽環境下では、骨は骨強度を低下させてしまう。インプラント埋入による骨機能低下は、まさにこの生物本来の「優れた」応答の結果であると言える。

そもそも、ひずみ遮蔽は金属インプラントのヤング率(110-200 GPa)が骨のヤング率(~30 GPa)と比較し著しく高いことに起因し、骨に本来負荷するはずの健全なひずみが著しく低下した状態である。ひずみ遮蔽克服のため、低ヤング率合金の開発や多孔質化による見かけのヤング率低減が国内外で盛んに試みられているが[2]、現状克服には至っていない。応募者はその最大の原因の1つが、ひずみ遮蔽状態と、骨強度(ヤング率、最大応力、靱性)を支配する骨アパタイト配向性の定量的関係性が解明されていないことにあると考えている。配向性は、骨強度に対して従来骨診断に用いられる骨密度の2倍以上[3](骨折への影響の大きい靱性に関しては3.5倍)もの寄与を有するにも関わらず、インプラント埋入の影響は骨密度のみによって診断され、さらに、インプラント開発のターゲットも専ら「骨量・骨密度を減らさないこと」を命題としている。実際、応募者らは、股関節置換インプラント(ステム)使用患者にて、レントゲンでは検知不可能な配向性の劣化を確認している[4]。このように、医療承認を受けた既存のインプラントであっても、従来の評価法では検出できない骨機能劣化を生じ、患者のQOL(Quality of life)の低下に直結する。従って、インプラント開発やインプラントの性能評価、骨の評価に、骨配向性を導入することが有意義であると期待される。

### 2. 研究の目的

本研究では、インプラントによるひずみ遮蔽とアパタイト配向性との関係を現象論的に説明するとともに、骨のひずみ感知と、ひずみ遮蔽(負荷が低減した状態)下での配向性劣化の要因に迫ることによって、最終的には骨劣化を生じないインプラント創製の指針を得ることを目指した。そのために、以下の3つの研究項目を設定した。

#### 「A\_ひずみ - 配向性連関解明」

図1に示す、従来基準とされてきたひずみ - 骨量・骨密度関係図(実線:ひずみに対する骨密度での応答現象[5])を、「ひずみ - 配向性関係図(破線:予測)」へと書き換える。インプラント使用患者にて、レントゲンでは検知不可能な配向性の劣化を確認している事実から、配向性低下に対するひずみの閾値は骨密度の閾値より高く、より狭い範囲でひずみを制御する必要があると予測された(図1の破線矢印)。

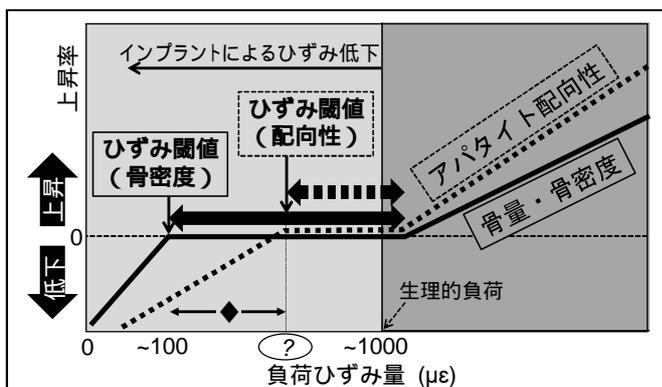


図1. 従来指標である骨密度のひずみに対する応答の模式図(実線、Frostら[5]が実証)と、負荷ひずみ - 配向性応答の予測図(破線)。

#### 「B\_インプラント仕様策定・検証」

有限要素計算によって、Aで同定した閾値を上回るひずみを骨に伝達することが可能なインプラントの仕様を求め、動物試験によって効果を実証する。

#### 「C\_生体メカニズム解明」

生体内応答は複雑系であり、関与する因子は多数存在することが予想されるが、本応募課題の範囲では、骨内のひずみセンサー細胞である骨細胞(以降OCYと記述)関連因子、特にオステオサイトの形態学的特徴に特化して解明する。

### 3. 研究の方法

「A」については、ラット長管骨に対し、除荷もしくは強制負荷を行い、骨でのひずみを人為的に制御し、骨の応答を解析した。「B」については、有限要素計算を用いてインプラント埋入下でのひずみを予測するとともに、実際にウサギ長管骨のインプラントを埋入によって、骨への影響を解析した。「C」については、オステオサイトの骨小腔・骨細管の形状とひずみ状態との関連

を解析した。

骨解析手法に関しては、骨形態をレントゲンならびに X 線マイクロ CT にて、骨密度を pQCT にて測定するとともに、微小領域 X 線回折法によりアパタイト *c* 軸配向性を定量解析した。アパタイト配向性は、人為的負荷下で形成された骨部位に対してのみ、X 線を骨長軸に対して垂直に照射し、X 線と垂直な二次元面内での解析を行い、(002)、(310)からの回折強度 ( $I(\beta)$ ) を  $\beta$  の 1 度ごとに積分し、以下の変形楕円関数にて最小二乗近似した[6]。

$$I(\beta) = \left\{ \frac{\cos^2(\beta-\mu)}{a^2} - \frac{\sin^2(\beta-\mu)}{b^2} \right\}^{\frac{1}{2}} - c$$

$a, b, c, \mu$  はフィッティングパラメータであり、 $\mu$  は強度が最大となる角度を示す。最終的に、(002)と(310)の回折強度比 ( $I(002)/I(310)$ ) を 1 度ごとに算出した。これにより、アパタイト *c* 軸の優先配向方向と配向度を定量解析可能である。骨強度指標としては、ヤング率をナノインデンテーション法にて解析した。さらに、オステオサイトの形状は、骨小腔・骨細管に蛍光色素を導入した後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて可視化し、形状を定量化した。統計学的処理には Student の *t* 検定と Pearson の相関、重回帰分析を用い、 $P < 0.05$  を統計的有意と判定した。なお、本研究に関連する動物実験は、大阪大学動物実験委員会の承認の下で実施した。

#### 4. 研究成果

図 2 に、人為的負荷によって骨表面に生じたひずみの大きさ(ひずみゲージで測定)の、負荷量依存性を示す。通常の活動で生じるひずみが約 1000  $\mu\epsilon$  であることから、5 N 以上の負荷で通常よりも大きな負荷が生じていることになる。13 N の負荷で約 3000  $\mu\epsilon$ 、15 N で 3500  $\mu\epsilon$  のひずみを骨表面に生じた。15 N の場合は、5 匹の被検体のうち 3 匹に骨折を生じたことから、3500  $\mu\epsilon$  が、おおよそ骨が堪え得る最大のひずみに対応すると言える。

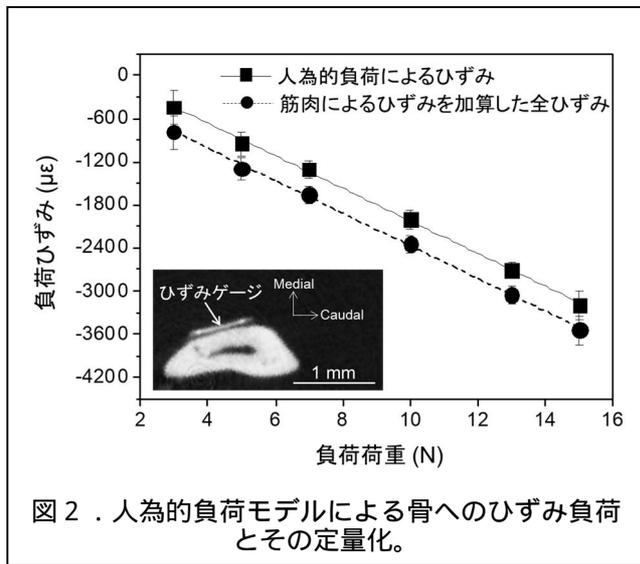


図 2 . 人為的負荷モデルによる骨へのひずみ負荷とその定量化。

人為的負荷下で形成した骨において、骨密度と骨長軸方向への配向性を解析した結果を図 3 に示す。人為的負荷の結果、骨密度は上昇したが、興味深いことに、その上昇量に負荷荷重の大きさに対する依存性は認められなかった。一方で、骨長軸方向への配向性は、人為的負荷によって変化し、5 N から 13 N までは負荷量依存的上昇した。しかしながら、15 N の負荷では配向性は著しく低下した。配向度と骨長軸方向 (= 主ひずみ負荷方向) のヤング率の間には有意な正の相関関係が存在し、ヤング率が配向度によって支配されていることが示された。一方で、骨密度とヤング率の間には有意な相関関係が認められなかった。

この結果は、骨は異方的な力学的負荷や刺激に対して、骨微細構造の異方性を変化させ、負荷方向に特異的に強化する機構を持つことを示している。BMD の変化によっては、荷重方向特異的な強化はできない。アパタイト配向の変化による機能適応は、荷重方向に特異的に、負荷ひず

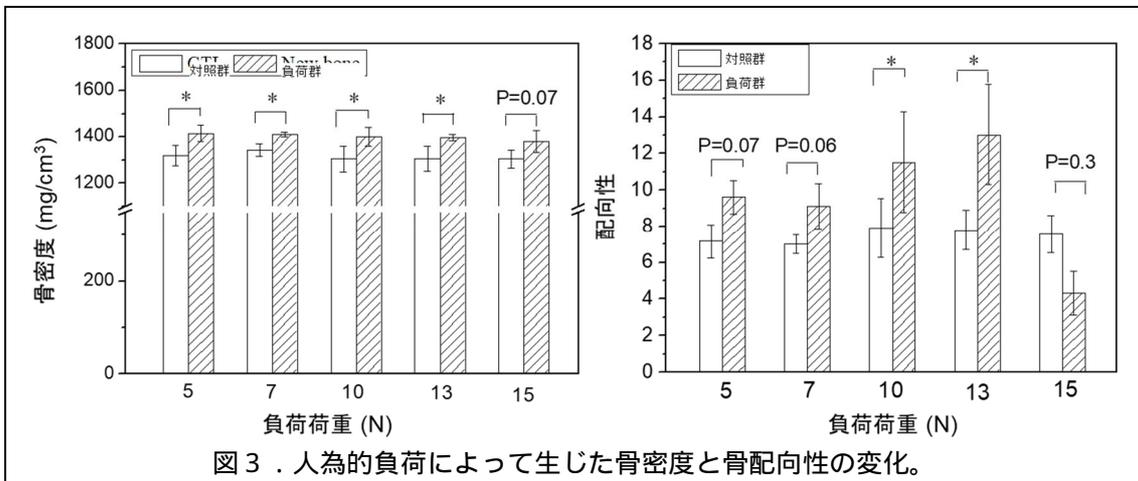


図 3 . 人為的負荷によって生じた骨密度と骨配向性の変化。

み依存的に骨を強化できる、効率的で合理的な機能適応様式であると言える。

こうした機能適応の発揮のためには、オステオサイトが健全に機能していることが必須であることが示唆された。15 Nの負荷では骨基質に微小亀裂が生じ、オステオサイトの骨細管ネットワークがダメージを受けており、これが骨配向性変化による応答を阻害したことがうかがえた。

オステオサイトが健全に機能していれば、オステオサイトが骨細管を通じた流体流動によってひずみの向きと大きさを感じ、ECMの異方性を変化させることが示された。これは、*in vivo*での負荷ひずみが大きい場合にはオステオサイトの骨小腔異方性と骨小腔から放射状に伸長する骨細管の走行方向の異方性が大きく、

負荷ひずみが小さい場合にはこれらが等方的になることと、ひずみ方向への骨配向性が相関関係を示すことによってモデル化された。

すなわち、インプラント埋入によって生じるひずみ遮蔽状態においては、オステオサイトの等方化と骨配向性の低下、さらには骨強度の劣化が生じることが示唆される。実際、金属製インプラントを埋入した骨において、図4に示すように、明確な骨吸収(骨量の減少)に加えて、オステオサイト小腔形状の等方化とヤング率の低下が生じていた。オステオサイトによるひずみ感受機構が正常であるため、ひずみ遮蔽された環境に適応を生じることで、結果として骨機能劣化が生じたことを意味する。インプラントが、骨折固定プレート等の一時的に使用されるデバイスである場合、除去時に負荷するひずみに対して十分な機能性を維持できていない可能性が示唆される。

以上より、健全な骨を維持するインプラントの実現には、ひずみ遮蔽状態をできるだけ回避するとともに、積極的にひずみを負荷するような仕組みをインプラントに導入するという戦略が不可欠である。

#### < 引用文献 >

- [1] Lindahl: Injury 38 (2007) 651-654.
- [2] Niinomi: JMBBM 1 (2008) 30-42.
- [3] Ishimoto, Nakano et al: JBMR 28 (2013) 1170-1179.
- [4] Noyama, Ishimoto, Nakano et al: Mater Trans 53 (2012) 565-570.
- [5] Frost: Anat Rec A, 275 (2003) 1081-1101.
- [6] Noyama et al: Bone 52 (2013) 659-667.

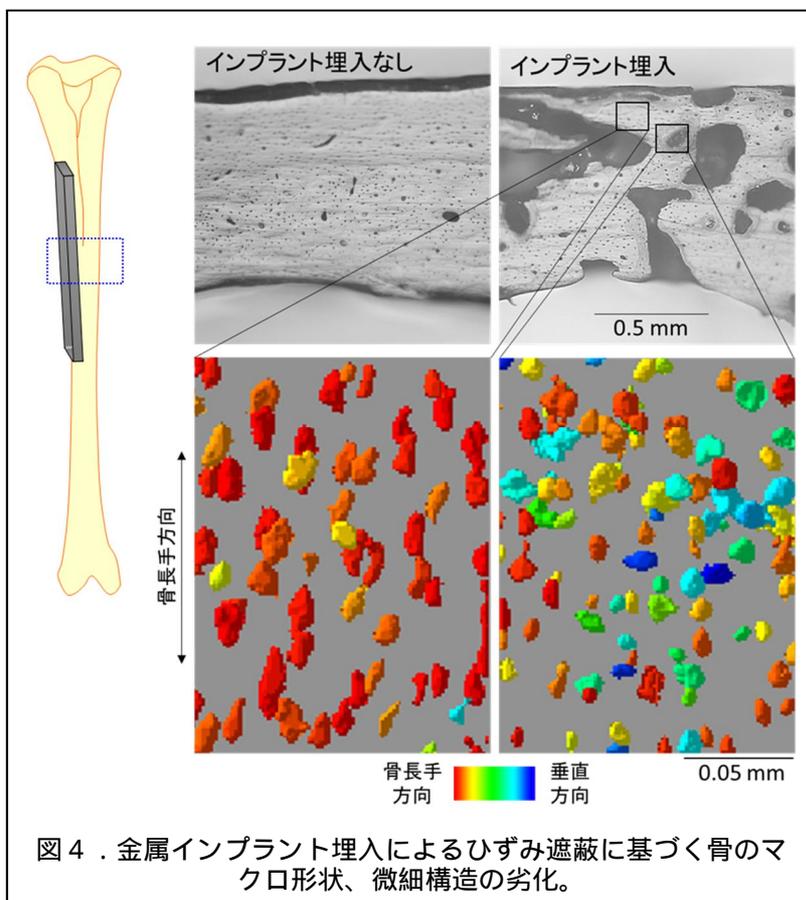


図4 . 金属インプラント埋入によるひずみ遮蔽に基づく骨のマクロ形状、微細構造の劣化。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 8件）

|   |                               |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名<br>Ishimoto Takuya, Hagihara Koji, Hisamoto Kenta, Nakano Takayoshi  | 4. 巻<br>43                    |
| 2. 論文標題<br>Stability of crystallographic texture in laser powder bed fusion: Understanding the competition of crystal growth using a single crystalline seed  | 5. 発行年<br>2021年               |
| 3. 雑誌名<br>Additive Manufacturing  | 6. 最初と最後の頁<br>102004 ~ 102004 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.addma.2021.102004   | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-                     |
| 1. 著者名<br>Ishimoto Takuya, Kawahara Keita, Matsugaki Aira, Kamioka Hiroshi, Nakano Takayoshi  | 4. 巻<br>109                   |
| 2. 論文標題<br>Quantitative Evaluation of Osteocyte Morphology and Bone Anisotropic Extracellular Matrix in Rat Femur   | 5. 発行年<br>2021年               |
| 3. 雑誌名<br>Calcified Tissue International  | 6. 最初と最後の頁<br>434 ~ 444       |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s00223-021-00852-1  | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-                     |
| 1. 著者名<br>Sun Shi-Hai, Hagihara Koji, Ishimoto Takuya, Suganuma Ryoya, Xue Yun-Fei, Nakano Takayoshi  | 4. 巻<br>47                    |
| 2. 論文標題<br>Comparison of microstructure, crystallographic texture, and mechanical properties in Ti <sub>2</sub> 15Mo <sub>2</sub> Zr <sub>3</sub> Al alloys fabricated via electron and laser beam powder bed fusion technologies | 5. 発行年<br>2021年               |
| 3. 雑誌名<br>Additive Manufacturing  | 6. 最初と最後の頁<br>102329 ~ 102329 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.addma.2021.102329   | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-                     |
| 1. 著者名<br>Takuya Ishimoto, Ryosuke Ozasa, Kana Nakano, Markus Weinmann, Christoph Schnitter, Melanie Stenzel, Aira Matsugaki, Takeshi Nagase, Tadaaki Matsuzaka, Mitsuharu Todai, Hyoung Seop Kim, Takayoshi Nakano               | 4. 巻<br>194                   |
| 2. 論文標題<br>Development of TiNbTaZrMo bio-high entropy alloy (BioHEA) super-solid solution by selective laser melting, and its improved mechanical property and biocompatibility   | 5. 発行年<br>2021年               |
| 3. 雑誌名<br>Scripta Materialia  | 6. 最初と最後の頁<br>113658          |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.scriptamat.2020.113658  | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>該当する                  |

|  |                        |
|--|------------------------|
| 1. 著者名<br>Keiichiro Mie, Takuya Ishimoto, Mari Okamoto, Yasumasa Imori, Kazuna Ashida, Karin Yoshizaki, Hidetaka Nishida, Takayoshi Nakano, Hideo Akiyoshi   | 4. 巻<br>15             |
| 2. 論文標題<br>Impaired bone quality characterized by apatite orientation under stress shielding following fixing of a fracture of the radius with a 3D printed Ti-6Al-4V custom-made bone plate in dogs | 5. 発行年<br>2020年        |
| 3. 雑誌名<br>PLoS ONE   | 6. 最初と最後の頁<br>e0237678 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1371/journal.pone.0237678   | 査読の有無<br>有             |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-              |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Ishimoto Takuya, Suetoshi Ryoichi, Cretin Dorian, Hagihara Koji, Hashimoto Jun, Kobayashi Akio, Nakano Takayoshi   | 4. 巻<br>127           |
| 2. 論文標題<br>Quantitative ultrasound (QUS) axial transmission method reflects anisotropy in micro-arrangement of apatite crystallites in human long bones: A study with 3-MHz-frequency ultrasound | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>Bone   | 6. 最初と最後の頁<br>82 ~ 90 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.bone.2019.05.034   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-             |

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Ishimoto Takuya, Wu Siqi, Ito Yukinobu, Sun Shi-Hai, Amano Hiroki, Nakano Takayoshi                  | 4. 巻<br>60                |
| 2. 論文標題<br>Crystallographic Orientation Control of 316L Austenitic Stainless Steel via Selective Laser Melting | 5. 発行年<br>2020年           |
| 3. 雑誌名<br>ISIJ International   | 6. 最初と最後の頁<br>1758 ~ 1764 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.2355/isijinternational.ISIJINT-2019-744   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-                 |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Ishimoto Takuya, Saito Mitsuru, Ozasa Ryosuke, Matsumoto Yoshihiro, Nakano Takayoshi                                      | 4. 巻<br>110             |
| 2. 論文標題<br>Ibandronate Suppresses Changes in Apatite Orientation and Young's Modulus Caused by Estrogen Deficiency in Rat Vertebrae | 5. 発行年<br>2022年         |
| 3. 雑誌名<br>Calcified Tissue International  | 6. 最初と最後の頁<br>736 ~ 745 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s00223-021-00940-2  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-               |

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>石本 卓也、高瀬 文、中野 貴由                |
| 2. 発表標題<br>型Ti-15Mo-5Zr-3Al金属AM造形体における残留応力 |
| 3. 学会等名<br>日本金属学会2022年春季講演（第170回）大会        |
| 4. 発表年<br>2022年                            |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>西川 侑希、石本 卓也、永瀬 文嗣、中野 貴由             |
| 2. 発表標題<br>金属AMによる生体用ハイレントロピー合金の強制固溶体化に基づく高機能化 |
| 3. 学会等名<br>日本金属学会2022年春季講演（第170回）大会            |
| 4. 発表年<br>2022年                                |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>森田尚昂、石本卓也、中野貴由                       |
| 2. 発表標題<br>金属 AM による 型 Ti 合金の結晶集合組織形成と力学機能異方性設計 |
| 3. 学会等名<br>日本金属学会2021年秋季講演（第169回）大会             |
| 4. 発表年<br>2021年                                 |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>石本卓也、川原啓太、松垣あいら、上岡 寛、中野貴由        |
| 2. 発表標題<br>長管骨におけるアパタイト配向化とオステオサイト形態異方性の相関性 |
| 3. 学会等名<br>第40回日本骨形態計測学会                    |
| 4. 発表年<br>2020年                             |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>菅沼諒耶、石本卓也、高岸洋一、山上達也、中野貴由            |
| 2. 発表標題<br>レーザー積層造形法による結晶集合組織制御のための熱拡散シミュレーション |
| 3. 学会等名<br>日本金属学会2020年秋期講演（第167回）大会            |
| 4. 発表年<br>2020年                                |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>森田尚昂、石本卓也、木村恒太、中野貴由            |
| 2. 発表標題<br>レーザー積層造形法を用いた階層的構造制御による異方性機能設計 |
| 3. 学会等名<br>日本金属学会2020年秋期講演（第167回）大会       |
| 4. 発表年<br>2020年                           |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>西川侑希、石本卓也、松垣あいら、小笹良輔、永瀬丈嗣、中野貴由 |
| 2. 発表標題<br>レーザー積層造形法による生体用ハイエントロピー合金の造形   |
| 3. 学会等名<br>日本金属学会2020年秋期講演（第167回）大会       |
| 4. 発表年<br>2020年                           |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>石本卓也                               |
| 2. 発表標題<br>金属工学に根差した骨機能解明とそれに基づく骨生体材料創製に関する研究 |
| 3. 学会等名<br>日本金属学会2020年春期講演大会                  |
| 4. 発表年<br>2020年                               |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|               | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                         | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                | 備考 |
|---------------|---|--------------------------------------|----|
| 研究<br>分担<br>者 | 中野 貴由<br><br>(Nakano Takayoshi)<br><br>(30243182) | 大阪大学・工学研究科・教授<br><br><br><br>(14401) |    |

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|