

厚生科学研究研究費補助金
効果的医療技術の確立推進臨床研究事業

骨折発生におけるマイクロクラック集積の影響と
プロテクターの骨折予防効果に関する基礎的研究

平成 15 年度 総括研究報告書

主任研究者 中土 幸男

平成 16 年(2004)年 4 月

目 次

I. 総括研究報告

- 大腿骨頸部骨折発生におけるマイクロクラック集積の影響と超音波および
プロテクターの骨折予防効果に関する基礎的研究 1
主任研究者 中土 幸男 国立病院機構長野病院 診療部長(整形外科)

II. 分担研究報告

1. 骨組織の力学特性の異方性測定の理論と測定例9
小林道明 北見工業大学機械システム工学科 教授
2. 培養骨系細胞のメカニカルストレス下での応答反応33
阿部康次 信州大学繊維学部機能高分子学科 教授
3. 転倒のセンシング技術開発と **Hipprotector** 設計に関する研究.....55
但野 茂 北海道大学大学院工学研究科 教授
4. 大腿骨有限要素モデルによる力学的研究67
1) 大腿骨有限要素モデルによる力学的研究
2) 質化法による骨組織の微視的力学特性解析
渡辺 直行 東京都立科学技術大学院工学系研究科助教授
5. 3次元CTによる骨標本の解析に関する研究.....84
日下部正宏 福井大学工学部教授

III. 研究成果の刊行に関する一覧表85

IV. 研究成果の刊行物・別刷 86

1. 超音波顕微鏡による肩腱板附着部の力学的特性分布の観察87
中土幸男、小林道明、清水絵美他
2. 多糖類系高分子電解質錯体(PEC)を用いた骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1)の
培養と低出力超音波パルスの影響107
寺本 彰、川崎高典、清水絵美他
3. 道歩行と転倒のセンシング117
柴野純一、但野 茂、森川 学他
4. 骨梁構造を組み込んだヒト大腿骨近位部の有限要素解析143
中土裕樹、渡辺直行、中土幸男他
5. A novel function of N-cadherin and Connexin43: marked enhancement of alkaline
phosphatase activity in rat calvarial osteoblast exposed to hyaluronan161
Nagahata M, Tsuchiya T, Ishiguro T, Matsuda N, Nakatsuchi Y, Teramoto,
Hachimori A, Abe K

大腿骨頸部骨折発生におけるマイクロクラック集積の影響と
超音波およびプロテクターの骨折予防効果に関する基礎的研究

主任研究者 中土 幸男

独立行政法人国立病院機構 長野病院 診療部長（整形外科）

研究要旨

ヒト大腿骨有限要素モデル上で片脚起立時には大腿骨頸部外側から大転子にかけて引っ張り応力が生じ、骨髄内骨梁の減少によってさらに応力集中の増加をもたらすことが観察された。これらのことから骨粗鬆化が進むと大腿骨外側部の引っ張り応力の増加と、骨修復能の低下によるクラックの集積とが加わって、軽微な外力で大腿骨頸部骨折を生じるものと推察された。ヒッププロテクターの市販品および開発途上の試作品について衝撃吸収性能を測定した。今後、試作品に改良を加え完成品とし、骨折防止効果を臨床フィールドで実証することが必要である。エアバッグ式のプロテクター開発を目的に、第一段階として転倒直前に変化する下肢の加速度変化をセンシングする歩行解析システムを開発した。本歩行解析システムと画像動作解析装置とを組み合わせることで転倒を繰り返す患者を対象とした防止訓練に利用できる可能性が示唆された。低出力超音波パルス照射によるマイクロクラックの新しい修復治療法の開発をめざし、基礎実験として、培養骨・軟骨細胞系への低出力超音波パルス照射の影響を調べた。多糖系高分子電解質錯体 PEC のアニオン成分ポリマーであるアニオン性多糖類がグリコサミノグリカン構造およびその類似構造をとる時に未分化間葉系細胞 ATDC5 細胞は凝集塊を形成し軟骨基質を豊富に産生し、軟骨に特異的な遺伝子の発現も早期に発現した。また、PEC 上で凝集塊を形成し活性化された ATDC 細胞は、低出力超音波パルスを照射することでより早期に分化が誘導された。しかし、PEC 上で培養された骨芽細胞に低出力超音波を照射し検討を加えたが明確な効果は観察されなかった。

A. 研究目的

骨粗鬆症に起因した大腿骨頸部骨折の発生数は本邦において急激な増加を示していることが報告されている。本研究の主眼は骨粗鬆症性変化がいかんして大腿骨頸部に高頻度に骨折を生じさせるのかを解明し、新しい大腿骨頸部骨折予防の方策を多面的に探ることにあつた。すなわち骨折予防策を立てる上で基礎となる粗鬆化した大腿骨の微視的および巨視的な形態観察と、それから導かれる頸部骨折発生を引き起こす力学的な脆弱性を抽出することであつた。次いで、これらの形態および力学解析に転倒の観察データとを考察し、から新しいコンセプトのヒッププロテクターを開発することであつた。一方、骨系培養細胞のメカニカルストレスに対する反応を分子生物学的に観察することから新しい骨粗鬆症の治療法の開発をめざした。

今年度の研究目標をより具体的にまとめると、以下の項目に分けられる。すなわち、1) 微視的な骨組織レベルで大腿骨の力学的特性分布を観察すること、一方、巨視的には大腿骨の有限要素モデルを構築し骨粗鬆化がもたらす応力分布の変化をとらえること、これらの結果から大腿骨頸部骨折の発生メカニズムを生体工学的に検討する。2) 骨・軟骨系培養細胞への低出力超音波照射によるメカニカルストレスに対する反応応答を観察し、骨粗鬆症の新しい治療法の可能性を検討する。3) 加速度センサーによる転倒のセンシングから転倒前に転倒特有の加速度変化をとらえエアバッグ式のプロテクターの開発を検討すること。さらに、従来の低いコンプライアンスのヒッププロテクターの改良を行い、患者に使ってもらえる新しい発想のヒッププロテクターの開発に着手した。

B. 研究方法

1) 大腿骨頸部骨折の発生メカニズムを生体工学的に解明するため以下の観察を行った。①ヒトの摘出大腿骨骨幹部の非脱灰硬組織標本を表面研磨し骨組織の力学的特性の分布を超音波顕微鏡で観察した。さらに、これまで報告がまちまちの値であつた大腿骨の部位別の力学的特性（縦および横弾性率、密度、ポアソン比）と皮質骨の異方性についても超音波顕微鏡を用いて非侵襲的に測定した。これら大腿骨の骨組織の力学的特性分布は次に述べる大腿骨の有限要素法モデルを構築する際にも用いられた。②ヒト大腿骨の3次元有限要素法モデルを構築し、大腿骨近位部への静的荷重により生じる皮質骨の応力分布を解析した。モデル構築においては、新しい試みとしてコーンビーム3D-X線CT装置（放射線総合医学研究所に設置）で大腿骨を撮影し、1辺が0.35mmの3次元Voxelデータ入手した。メッシュ要素をCT値とvoxelデータを基準に作成し、従来に比べ短時間に有限要素モデルを構築した。構築したヒト大腿骨近位モデルにおいて、骨髄内の海綿骨構造を組み込んだ場合とこれを除いた場合とで静的荷重下での皮質骨にかかる応力分布の差異を比較した。このことから骨粗鬆症の進行とともに骨梁構造が消失することで大腿骨近位の骨皮質にどの程度の応力分布の変化を生じるのかを検討した。

2) 骨へのメカニカルストレスとしての低出力超音波照射の治療的意義を基礎的に検討するために、培養マウス由来骨芽細胞及びマウス由来未分化間葉系細胞に超音波を照射しその反応応答を観察し、未照射群との比較を行った。多糖系高分子電解質錯体(PEC)を培養基材として、軟骨に分化する能力を有する未分化間葉系細胞(ATDC5)を培養し、増殖・分化挙動について検討を行うとともに、低出力超音波パルス（照射

条件:1MHz,パースト幅200 μ 秒で10分間照射)が軟骨分化に及ぼす効果について検討を行った。3) 転倒の検出とヒッププロテクター設計のための基礎データを得るために以下の実験を行った。①加速度計および角加速度計を装着した被験者を実際に転倒させ転倒時の加速度変化を解析した。さらに、雪道歩行での不安定歩行の解析、等身大のマネキンを用いた転倒実験等によって大転子部への衝撃量の測定を行った。②現在市販されているヒッププロテクターおよび我々が開発中のプロテクターの衝撃吸収性能を、衝撃力の変化率、最大衝撃荷重、衝突時間を評価項目として、試作した衝撃試験器を用いて実験的に調べた。

C. 研究結果

1) ①高齢者女性で骨粗鬆症のヒト大腿骨骨幹部皮質骨を超音波顕微鏡で観察し、縦弾性率の異方性について調べた。その結果、本例では荷重方向である骨の長軸方向とそれに垂直な水平方向で縦弾性率に一定の差異はなく異方性はほとんど認められなかった(2-[6])。一方、ビーグル成犬の骨幹部皮質骨では重力方向である長軸方向に縦弾性率が常に大きい異方性を有していた。②コーンビーム型3次元CT装置による高解像度のCTデータとボクセル要素でのモデル構築法から骨梁構造を組み込んだ大腿骨近位部の有限要素モデルを作成した。さらに片脚起立を想定した静解析を行ったところ、大腿骨頸部外側に引張、内側に圧縮の応力集中がみられた。ついで、このモデルの骨梁構造を取り除くことで、それぞれの応力範囲が拡大し、平均で約40%の応力値の増加が見られた(1-[1])。これより海綿骨骨梁は静荷重下で大腿骨頸部に集中する引張および圧縮応力を分散する役割をしている可能性が示唆された。

2) PEC のアニオン成分ポリマーであるアニオン性多糖類がグリコサミノグリカン構造およびその類似構造をとる時に、ATDC5 細胞は凝集塊を形成すると共に軟骨基質を豊富に産生し、軟骨に特異的な遺伝子の発現も早期に発現することが示された(1-[2]、2-[1]、[2]、[7])。また、PEC 上で凝集塊を形成し活性化された ATDC 細胞は、低出力超音波パルス照射することでより早期に分化が誘導されることが示された。しかし、PEC 上で培養された骨芽細胞に低出力超音波を照射し検討を加えたが明確な効果は観察されなかった。

3) ①転倒のセンシング実験では、加速度は変化が複雑であるのに比べ、腰部での角加速度の変化は単純であり検出対象として優れていた。雪道歩行時に於ける加速度、角加速度変化についても検討した結果、スリップした瞬間の足首の進行方向と左右方向加速度の変化には共通点があることがわかった。また、転倒直前の加速度変化を検出することができることがわかった(1-[3])。②現在市販のヒッププロテクターの評価試験では、SAFEHIP (HIProtector 社)が最も転倒時の衝撃を吸収することがわかった。また、製品として加工されていないが、低反発スポンジも衝撃吸収に優れた効果を発揮することがわかった。しかし、実際にヒッププロテクターとして使用する際には、装着感も考慮しなければならない。SAFEHIP は衝撃吸収能力に優れているが、普通の下着と比べると硬い素材でできているために、装着したときかなり違和感がある。違和感を少なくするには、こつこつヒッププロテクターHW3064)、こつこつヒッププロテクターHW3063)、air cell、SORBOTHANE、低反発スポンジのような表面に硬い素材を使用していないものを装着するべきだが、やや衝撃吸収能力は低くなるものが多い。

D. 考察

1. 大腿骨頸部骨折の発生機序について

Mori 等の Fuchsin 染色による摘出大腿骨骨頭の観察によれば、70 歳以上の高齢者では加齢とともに大腿骨骨頭海綿骨にマイクロクラックの密度が急激に増加することを指摘した。我々は実際に骨折を呈する高齢者の大腿骨頸部の硬組織を超音波顕微鏡で観察したところ、大転子部に多数のマイクロクラックがみられた。我々の構築したヒト大腿骨有限要素モデル上で片脚起立を想定した静荷重条件下では大腿骨頸部外側から大転子にかけて引っ張り応力の集中がみられたことは、上述の組織学的なマイクロクラックの分布とも符号する所見と言える。骨粗鬆症患者では軽微な外力で頸部骨折を生じるが、この頸部での易骨折性の原因にはクラックの大転子部での集積が関与していると考えられる。

諸家の報告と同じく、マイクロクラックは骨組織の中では骨改変のサイクルでは古い骨に属する介在層板に発生していた。また、粗鬆骨では内部は空虚で仮骨による骨折治癒機転がみられなかったことは、Mori 等の指摘する骨芽細胞数の減少による骨新生能の低下による可能性が示唆された。ビーグル成犬のクラックと比較すると、通常は介在層板に生じたクラックはリモデリングにより直ちに新生仮骨により修復されるが、骨粗鬆症の進行とともにこのリモデリングのサイクルが破綻を来してクラックの集積、さらには骨折に至ると考えられる。

これまで測定手法が確立されていなかったこともあって、骨の力学的評価において異方性が議論されることが少なかった。今回の我々の研究ではスリットを装着した超音波顕微鏡を用いることで、大腿骨の皮質骨の荷重方向である骨長軸方向とそれに直交する水平方向の縦弾性率について異方性の程度を測定することができた。

今回のヒトの大腿骨は高齢の女性で死亡前は寝たきりであった。この大腿骨骨幹部の皮質骨では通常はみられる水平方向に比べて高い荷重方向の縦弾性率は観察されず異方性がみられなかった。恐らく歩行していなかったことによる異方性の消失ではないかと推定される。異方性を規定しているのは歩行などの負荷が骨の荷重方向へ力学的特性の傾斜を促すモデリングである。今後は異方性を構成する力学的特性および組織学的要素を分析すると同時に、症例を増やして歩行状況など力学的負荷と異方性との関連性を追求する必要もある。

2. 研究成果の応用と展開について（政策医療との関連から）

本研究期間の最終年にこれまでの大腿骨頸部骨折の骨折発生機序の研究成果を踏まえ、新しい発想でのヒッププロテクターの開発に着手した。開発においては2つコンセプトで臨んだ。一つはプロテクター本来の機能である衝撃吸収性能の向上である。もう一つは24時間の装着を前提とした装着感の追求である。現在の市販品はともすれば前者を重視するあまり、後者を軽視したデザインをとった結果、装着率が極めて低いのが現状である。本研究でこれまでに、大腿骨頸部におけるプロテクターの衝撃吸収性能を測定できる試験器を製作し、市販品および開発途上の試作品を検査した。SAFEHIP

(HIProtector 社) が最も転倒時の衝撃を吸収することがわかった。しかし、実際にヒッププロテクターとして使用する際には、装着感も考慮しなければならない。SAFEHIP は衝撃吸収能力に優れているが、普通の下着と比べると硬い素材でできているために、装着したときかなり違和感がある。違和感を少なくするには、こつこつヒッププロテクター(HW3064)、こつこつヒッププロテクター(HW3063)、air cell、

SORBOTHANE、低反発スポンジのような表面に硬い素材を使用していないものを装着するべきだが、やや衝撃吸収能力は低くなるものが多い。このように、装着感と衝撃吸収能力を両立させるのは困難であるが、今回評価の対象としたヒッププロテクターの中では、低反発スポンジが最もこの二つの条件を満足できているといえる。また、仮に、air cellの内部のスポンジを低反発のスポンジに変えたとすると、さらにヒッププロテクターとして優れたものになると予測される。なお、エアバッグ方式のヒッププロテクターの開発は、転倒発生のセンシングまでは達成されたが、エアバッグを膨らます機構の開発までには至っていない。分担研究者に新たにプロテクター開発経験者を加えて、これまでの開発のノウハウを生かした研究デザインを作成し研究を推進した。装具メーカーと共同で開発している試作品をさらに改良を加え完成品を仕上げることで、その製品の骨折防止効果を臨床フィールドで実証することが今後必要である。なお、ヒッププロテクターは骨粗鬆症治療外来において、その必要性、使用方法などを説明した上で医師が処方するシステムに改めることで装着率の向上も得られると考えている。

大腿骨頸部骨折の原因の8割以上が転倒であると言われている。以前、我々が行った研究で、大腿骨のどの部位に衝撃が加わっても大腿骨頸部にはねじれモーメントによる応力集中が起きていることを実証した(吉田郁夫、中土幸男他、医用電子と生体工学 37 - 3:285-292,1999.)。大腿骨頸部は人間が二足歩行したときから、転倒による骨折の弱点部位として運命づけられたとも言える。大腿骨頸部骨折を起こさないためには、大腿骨の突出部(大転子部や大腿骨下端外側部)への衝撃を避けること、すなわち、転倒しないことでそのかなりの割合を減らす効果

があると思われる。現在、自治体などが主体となって転倒予防教室などが普及してきた。その転倒予防効果も報告されるようになってきている。しかし、ターゲット(対象者)を転倒を繰り返す、いわば骨折予備群にした場合の転倒予防メニューと健常人である一般市民を対象としたものとは自ずと同じではない。転倒を繰り返す人の歩行の特徴として、足関節の背屈の時間的遅延、股関節伸展が不足し屈曲位をとるなどの特徴が報告されている。また、片側の大腿骨頸部骨折を罹患したひとは反対側も骨折する危険性が高い印象を持っている。このような転倒を繰り返すひとや片側頸部骨折罹患者の骨折を防止する方策の一つとして、プロテクターの装着に加えて、転倒防止訓練を院内で行う必要がある。その効果的な転倒防止訓練内容を確立する上で、今回我々が開発した3軸加速度計と角加速度計を組み合わせた歩行解析システムは画像による動作解析装置と組み合わせることで有効な手段となると思う。転倒しやすい場面は一般病院や療養型病院の下肢筋力の低下した入院患者ではよくみかける。このような治療的歩行訓練の評価装置として本歩行解析システムの開発は不可欠と思われる。

大腿骨頸部骨折予防の戦略においてはこれまで述べた対症療法的内容だけでは本質的な解決につながらないと思われる。比較的長期的視点に立った戦略的研究が必要と思われる。最近のビフォスフォネート製剤による骨量増加効果および骨折抑制効果もその一つである。体内から骨強度を骨折発生の衝撃閾値以上の耐性まで高める治療法の開発を探ってゆく必要がある。今回我々が行った培養骨・軟骨細胞系への低出力超音波パルス照射実験もそのような観点に立った基礎実験である。多糖系高分子電解質錯体PECのアニオン成分ポリマーであるアニオン性

多糖類がグリコサミノグリカン構造およびその類似構造をとる時に、未分化間葉系細胞 ATDC5 細胞は凝集塊を形成し軟骨基質を豊富に産生し、軟骨に特異的な遺伝子の発現も早期に発現した。また、PEC 上で凝集塊を形成し活性化された ATDC 細胞は、低出力超音波パルス照射することにより早期に分化が誘導された。これは基質の環境条件が整うと未分化間葉系細胞は凝集塊を形成し遺伝子発現を介した軟骨基質産生が促進される。そこに超音波によるメカニカルストレスが細胞-細胞間の情報伝達を促進し（カドヘリン発現増加）軟骨細胞の分化が促進されるのではないかと推測される。大腿骨頸部への未分化間葉系細胞注入と低出力超音波パルス照射を組み合わせたマイクロクラックの修復治療法の開発をめざしさらに実験を進めたい。

E. 結論

ヒト大腿骨有限要素モデル上では片脚起立で大腿骨頸部外側から大転子にかけて引っ張り応力の集中がみられ、骨髄内海綿骨骨梁を除くとさらに応力集中が増加した。これらのことから骨粗鬆化が進むと大腿骨外側部に引っ張り応力が増加し、生じたマイクロクラックの修復能の低下が加わってこれらが集積し、軽微な外力で生じる頸部骨折を生じるものと推察された。皮質骨においても、歩行などの運動が減ると本来備えている重力方向に高い弾性率を示す異方性が消失し、荷重負荷に耐えられなくなり容易に骨折するものと推察された。

大腿骨頸部におけるプロテクターの衝撃吸収性能を測定できる試験器を製作し、市販品および開発途上の試作品を検査した。今後、装具メーカーと共同で開発している試作品をさらに改良を加え完成品を仕上げることで、その製品の骨折防止効果を臨床フィールドで実証することが

必要である。エアバッグ式のプロテクター開発を目的に、第一段階として転倒直前に変化する加速度変化をセンシングする歩行解析システムを開発した。本歩行解析システムと画像動作解析装置とを組み合わせることで転倒を繰り返す患者を対象とした防止訓練に利用できる可能性が示唆された。

大腿骨頸部への未分化間葉系細胞注入と低出力超音波パルス照射を組み合わせたマイクロクラックの新しい修復治療法の開発をめざし、基礎実験として、培養骨・軟骨細胞系への低出力超音波パルス照射実験の影響を調べた。多糖系高分子電解質錯体 PEC のアニオン成分ポリマーであるアニオン性多糖類がグリコサミノグリカン構造およびその類似構造をとる時に、未分化間葉系細胞 ATDC5 細胞は凝集塊を形成し軟骨基質を豊富に産生し、軟骨に特異的な遺伝子の発現も早期に発現した。また、PEC 上で凝集塊を形成し活性化された ATDC 細胞は、低出力超音波パルス照射することにより早期に分化が誘導された。しかし、PEC 上で培養された骨芽細胞に低出力超音波を照射し検討を加えたが明確な効果は観察されなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- [1] 中土裕樹, 渡辺直行他: 骨梁構造を組み込んだヒト大腿骨近位部の有限要素解析. 日本臨床バイオメカニクス学会誌 25:2004 (査読中)
- [2] 寺本 彰, 阿部康次他: 多糖類系高分子電解質錯体 (PEC) を用いた骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1) の培養と低出力超音波パルスの影響. 日本臨床バイオメカニクス学会誌 25:2004 (査読中)
- [3] 柴野純一, 但野 茂他: 雪道歩行と転

倒のセンシング. 日本臨床バイオメカニクス学会誌 25:2004 (査読中)

- [4] 中土幸男、立岩 裕他：腱板付着部の超音波顕微鏡観察. 日本臨床バイオメカニクス学会誌 25:2004 (査読中)

2. 学会発表

- [1] 平田智子, 長幡 操他：超音波照射条件下の骨芽細胞の培養と機能発現、第52回高分子学会年次大会予稿集、52, 1150, 2003
- [2] 清水絵美、川崎崇典他：高分子電解質錯体による軟骨細胞(ATDC5)の機能制御、第25回日本バイオマテリアル学会予稿集、273、2003
- [3] 柴野純一、但野 茂他：雪道歩行時の身体加速度測定、日本機械学会 2003 年度年次大会講演論文(VII), (2003) 125-126.
- [4] 柴野純一、但野 茂他：雪道歩行と転倒のセンシング. 第 30 回日本臨床バイオメカニクス学会, 宇部, 2003 年 11 月 27-28 日.
- [5] 中土裕樹, 渡辺直行他：骨梁構造を組み込んだヒト大腿骨近位部の有限要素解析. 第 30 回日本臨床バイオメカニクス学会, 宇部, 2003 年 11 月 27-28 日.
- [6] 小林道明、中土幸男：スリット装着超音波顕微鏡による骨組織力学特性の異方性測定—理論と測定例—. 第 30 回日本臨床バイオメカニクス学会, 宇部, 2003 年 11 月 27-28 日.
- [7] 寺本 彰、阿部康次他：多糖類系高分子電解質錯体 (PEC) を用いた骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1) の培養と低出力超音波パルスの影響. 第 30 回日本臨床バイオメカニクス学会, 宇部, 2003 年 11

月 27-28 日.

- [8] 中土幸男、立岩 裕他：腱板付着部の超音波顕微鏡観察. 第 30 回日本臨床バイオメカニクス学会, 宇部, 2003 年 11 月 27-28 日.
- [9] 中村順之、中土幸男他：大腿骨頸部骨折の予後調査 Part1 FIM による ADL 評価. 第 40 回日本リハビリテーション医学会学術集会、札幌、2003 年 6 月 18-20 日.
- [10] 中土幸男、波多腰峰子他：大腿骨頸部骨折の予後調査 Part1 SF-36 による QOL 評価. 第 40 回日本リハビリテーション医学会学術集会、札幌、2003 年 6 月 18-20 日.
- [11] 中土裕樹, 渡辺直行他：コーンビーム型 3 次元 CT 画像より構築したヒト大腿骨近位部の有限要素モデル. 第 16 回バイオエンジニアリング講演会, 北九州市, 2004 年 1 月 22-23 日.
- [12] Nakatsuchi H, Watanabe N, et al.: Effect of cancellous bone on the stress distribution in the proximal human femur. The First Asian Pacific Conference on Biomechanics, Osaka, March 25-28, 2004

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業）
分担研究報告書

骨組織の力学特性の異方性測定の理論と測定例

分担研究者 小林 道明（北見工業大学 教授）

研究要旨

骨粗鬆症などにみられる骨組織力学特性の劣化の的確な評価や、あるいはテーラーメイド医療のために骨の力学挙動を、例えば有限要素法によりシミュレートする際に必要である骨組織力学特性の評価においては、その力学的異方性をより高精度に測定する方法の確立が必要不可欠である。そこで、本研究では骨組織力学特性において横等方性の特徴を有することに着目し、等方断面内の表面波速度と音響インピーダンスの測定結果を用いて、骨組織の密度および等方断面内の弾性係数を求める。次いで異方性断面内の表面波速度と先に計測した音響インピーダンスと骨組織の密度並びに等方断面の弾性係数を用いて異方性断面内の弾性係数を求める理論的定式化を試みた。それぞれの断面内の表面波速度を計測するためにスリット装着超音波顕微鏡を用い、測定例として高齢の女性の大腿骨骨幹部において種々の場所の密度分布および重力方向である骨の垂直断面内とそれに垂直な骨の水平断面内の弾性係数分布を測定した。また、高齢者の骨組織力学特性との比較で若年の犬の大腿骨の力学特性分布も計測し、骨組織力学特性の劣化とともに骨組織の異方性が減退することを明らかにした。

第1章 超音波顕微鏡による骨の物性値測定の原理および方法

分担者 北見工業大学 小林 道明

1-1 音響インピーダンス

1-1-1 縦波に対する音響インピーダンス

図1.1に超音波顕微鏡による伝搬経路と反射波振幅測定法を示す。超音波顕微鏡の音響レンズから入射した超音波は、空気中を伝わらないためレンズ先端Eよりカップラントである水を通り、試料表面E'で反射、または試料内部へ減衰する。反射した波は、ふたたびカップラントである水を通り音響レンズに戻っていく。この際、オシロスコープには3つの波を受波しモニタに表示する。1つ目が打ち出し波で音響レンズに入る波、2つ目がセンサエコーで音響レンズからE点で反射し戻っていく波、3つ目がE点を通り試料表面E'で反射し戻っていく波である。

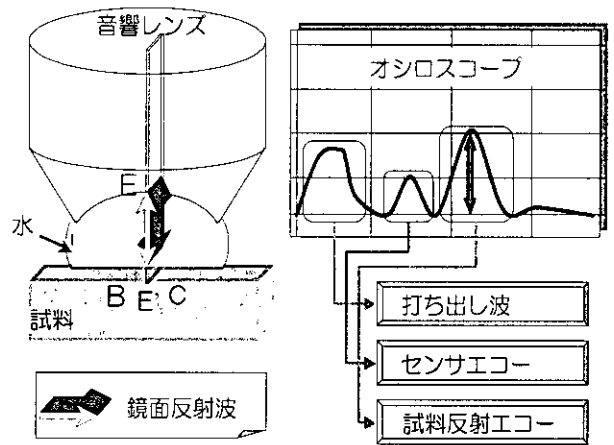


図1.1 超音波顕微鏡による伝搬経路と反射波振幅測定法

縦波を入射した際のアルミの反射係数および骨の反射係数を R_a 、 R_b とすれば縦波に対するアルミニウム、骨、水の音響インピーダンス Z_{La} 、 Z_{Lb} 、 Z_w との間には次式の関係がある。

$$R_a = \frac{(Z_{La} - Z_w)}{(Z_{La} + Z_w)} \quad \dots (1.1)$$

$$R_b = \frac{(Z_{Lb} - Z_w)}{(Z_{Lb} + Z_w)} \quad \dots (1.2)$$

ここで、 R_a 、 R_b を直接測定することは困難なので、その比 $X = R_b/R_a$ を超音波顕微鏡により測定する。

反射強度比 X は式(1.1)(1.2)より

$$X = \frac{R_b}{R_a} = \frac{(Z_{Lb} - Z_w)(Z_{La} + Z_w)}{(Z_{La} - Z_w)(Z_{Lb} + Z_w)} \quad \dots (1.3)$$

なので

$$Z_{Lb} = \frac{\{Z_{La} + Z_w + (Z_{La} - Z_w)X\}Z_w}{Z_{La} + Z_w - (Z_{La} - Z_w)X} \quad \dots (1.4)$$

となる。よって、式 (1.4) に超音波顕微鏡で求めた反射強度比 X を代入してやれば縦波に対する音響インピーダンスを求めることができる。

1-1-2 横波に対する音響インピーダンス

横波に対する骨の音響インピーダンスも同様に横波を使って求めたいが、超音波顕微鏡の特性により横波で試料の物性を測定をすることはできない。そこで、横波の音響インピーダンスが既知な金属、非金属に関して縦波の試料反射エコーの振幅を超音波顕微鏡で測定し、各試料の反射強度比 X を求めた。その測定結果と各材料の横波に対する音響インピーダンスの値を表 4.1 に示す(詳細な測定結果については付録参照)。各試料の反射強度比 X を横軸に、横波の音響インピーダンスを縦軸に取りグラフを書くと、図 1.2 に示すような、 $Z_T = 0.157e^{4.047X}$ という近似曲線を得ることができる。よって骨の横波に対する音響インピーダンスは、骨試料の反射エコーを超音波顕微鏡で計測し、式 (1.5) に代入することにより求めることができる。

$$Z_{Tb} = 0.157e^{4.047X} \quad \dots (1.5)$$

表 1.1 反射強度比 X と横波の音響インピーダンス Z_T の値
(アルミニウム・ガラス・銅・チタン・ナイロン6による)

	アルミニウム	ガラス	銅	チタン	ナイロン6
反射強度比	1.00	0.99	1.15	1.11	0.48
音響インピーダンス	8.20	7.50	20.20	13.50	1.18

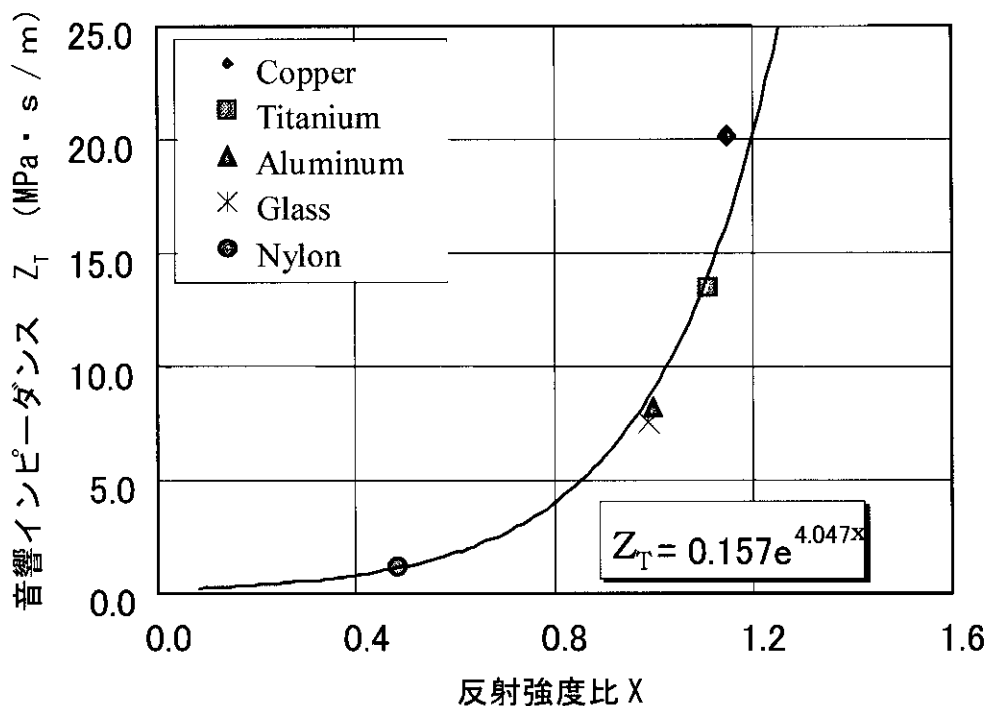


図 1.2 音響インピーダンスと反射強度比の関係

骨の力学特性は異方性を有しているが、図1. 3に示すように重力に等価な横断面内で分布する力学特性はほぼ等方性の性質を有し、一方重量の影響が顕著な縦断面内においては図1. 4に示すように重力方向に強化された力学特性となっている。したがって、骨の力学特性を解析する際には横等方性として扱うことが可能であり、解析を容易にする。

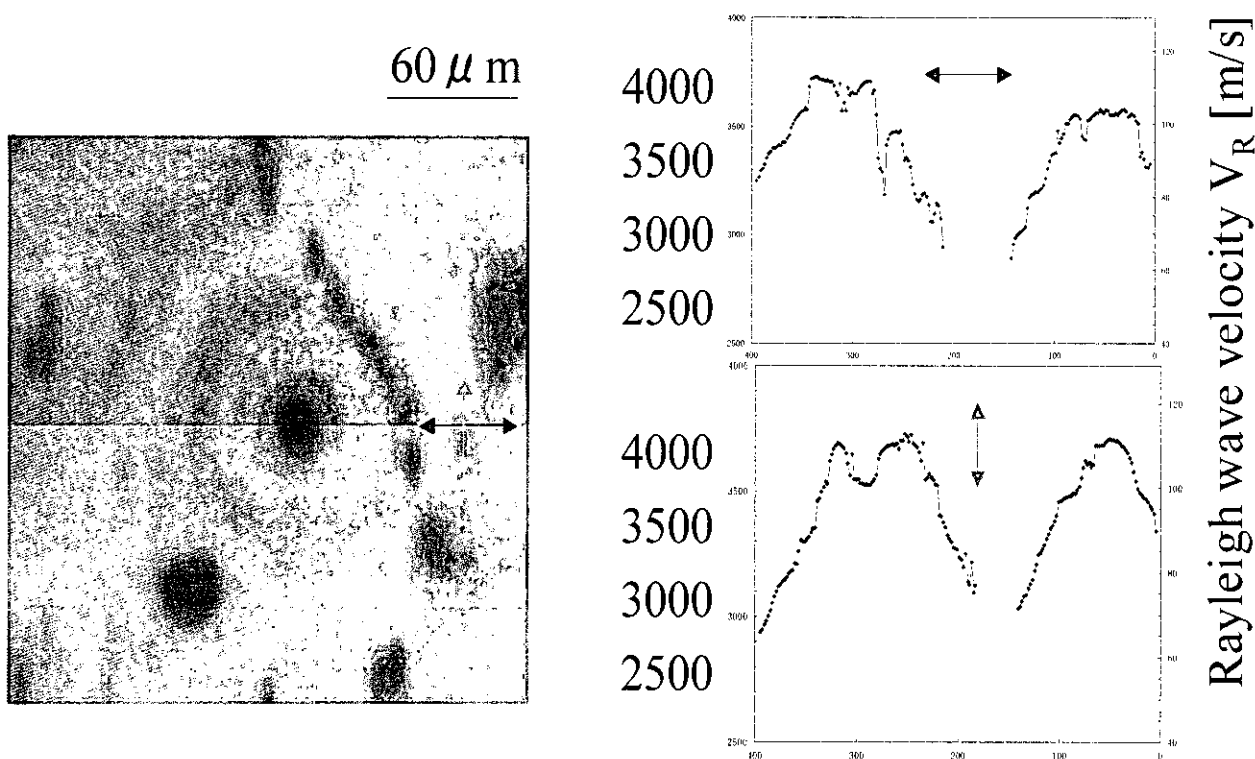


図1. 3 骨幹部横断面の力学特性

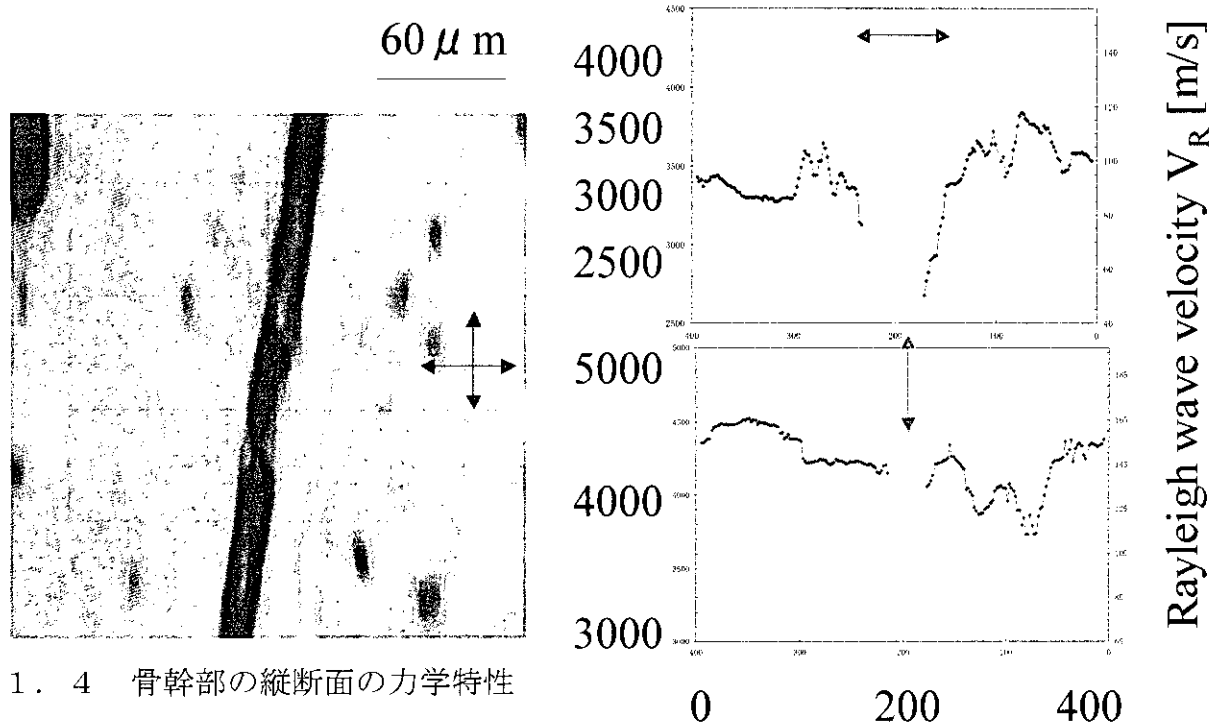
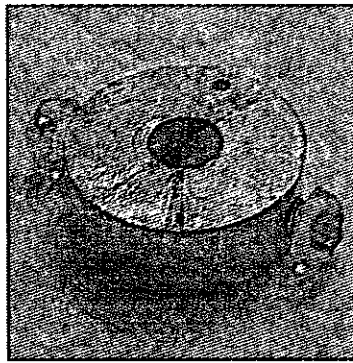


図1. 4 骨幹部の縦断面の力学特性

ポイントフォーカスレンズで力学特性の異方性を測定するためには図1.5に示すスリットをレンズ先端に装着する。その際、図1.6左図に示すように超音波表面波の伝搬方向とスリットの向きが一致した場合のみ音速測定が可能になり、したがって主波の方向である異方性主軸の方向の測定も可能となる。これに対して、一般的に異方性測定に用いられる図1.6右図に示すラインフォーカスレンズでは異方性の主軸方向に関わらず音速測定が可能であるが、何を測定しているか十分な注意を要する。



スリットホルダー
(開口角 40°)

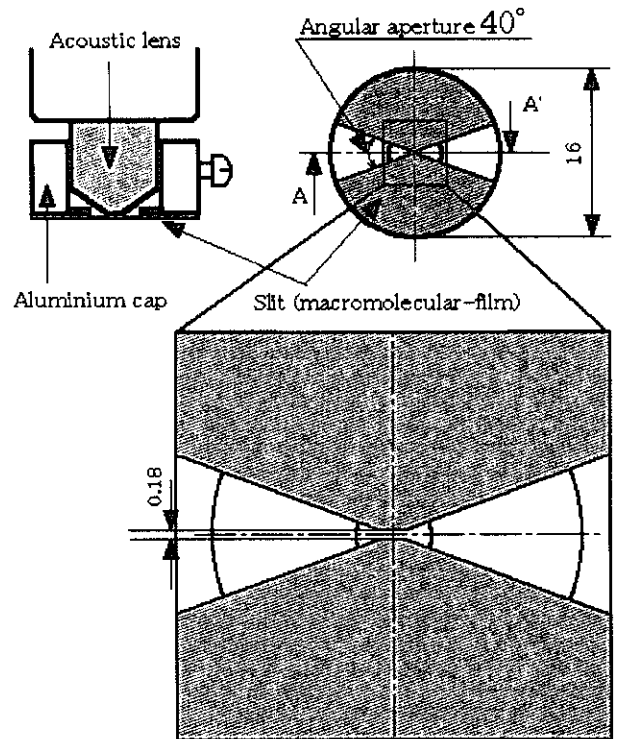


図1.5 異方性測定のためにポイントレンズに装着するスリット

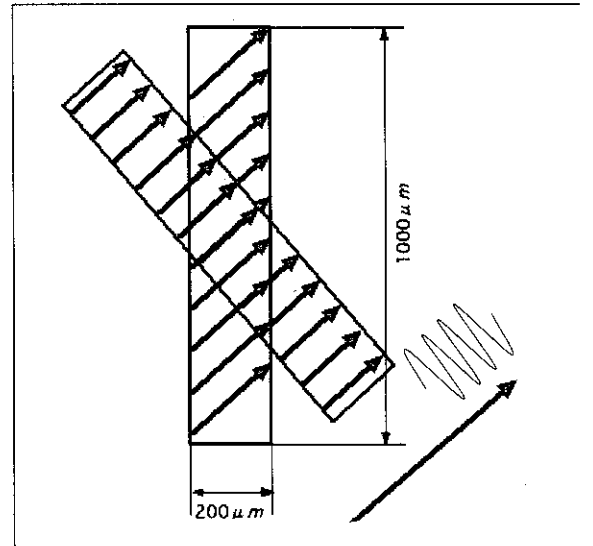
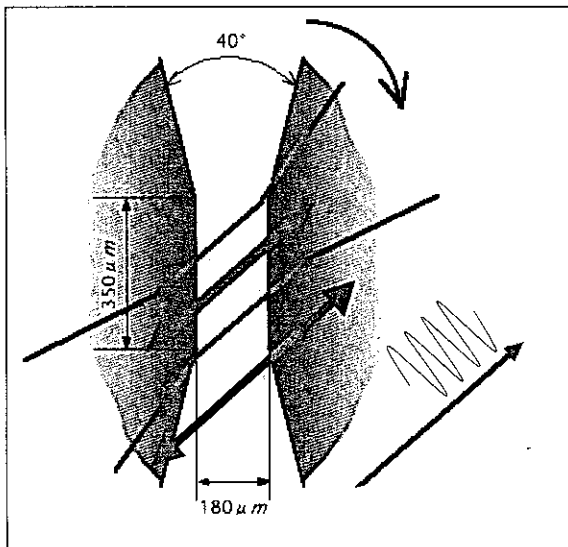


図1.6 スリットのと表面波の伝搬方向との関係

1-2 異方性弾性定数の算定方法

1-2-1 座標軸

弾性定数を求める理論式を導くにあたり、図1.7に示すように座標軸を決定する。ここで、 X_3 は深さ方向であり、 X_1, X_2 方向は試料表面の方位である。 X_2-X_3 面内が等方性であるとし、 X_1 が異方性方向であるとする。

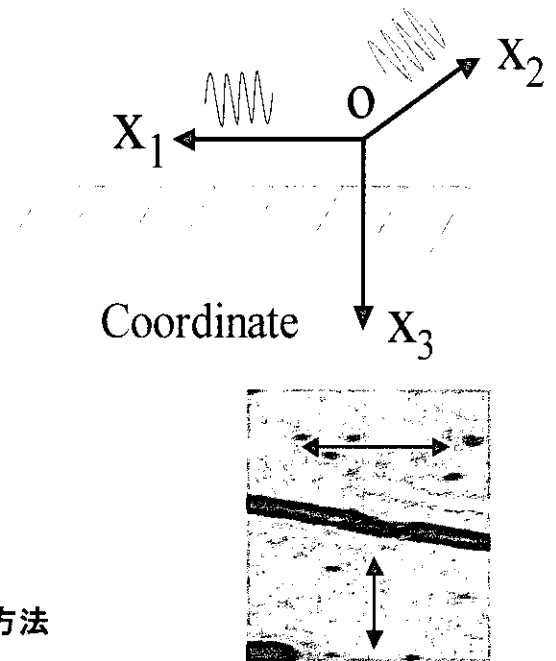


図1.7 座標軸の決定

1-2-2 横等方性面内の弾性定数の算定方法

(1) 弾性定数

横等方性面内の横弾性係数 G 、縦弾性係数 E はそれぞれ次式によって求めることができる。

$$G = \frac{Z_{Tb}^2}{\rho_b} \quad \dots (1.6)$$

$$E = 2(1+\nu)G \quad \dots (1.7)$$

(2) ポアソン比

横等方性面内において、縦波、横波に対する音響インピーダンス Z_{Lb}, Z_{Tb} と横等方性面内のポアソン比 ν の間には、次式のような関係がある。

$$\frac{V_{Tb}}{V_{Lb}} = \frac{Z_{Tb}}{Z_{Lb}} = \sqrt{\frac{1-2\nu}{2(1-\nu)}} \quad \dots (1.8)$$

この式を変換すると

$$\nu = \frac{2\left(\frac{Z_{Tb}}{Z_{Lb}}\right)^2 - 1}{2\left\{\left(\frac{Z_{Tb}}{Z_{Lb}}\right)^2 - 1\right\}} \quad \dots (1.9)$$

となり、横等方性面内のポアソン比を求めることができる。

1-2-3 密度の算定方法

等方性断面内での Rayleigh 波の速度 V_R 、横波の音速 V_T 、縦波の音速 V_L の間には次式の関係がある。

$$\left(\frac{V_R}{V_T}\right)^6 - 8\left(\frac{V_R}{V_T}\right)^4 + 8\left\{3 - 2\left(\frac{V_T}{V_L}\right)^2\right\} - 16\left\{1 - \left(\frac{V_T}{V_L}\right)^2\right\} = 0 \quad \dots (1.10)$$

骨の縦波、横波の音速はそれぞれ

$$V_{Lb} = \frac{Z_{Lb}}{\rho_b} \quad \dots (1.11)$$

$$V_{Tb} = \frac{Z_{Tb}}{\rho_b} \quad \dots (1.12)$$

の関係があるので、これを式 (1.10) に代入すると

$$\left(\frac{V_R}{Z_{Tb}}\right)^6 \rho_b^6 - 8\left(\frac{V_R}{Z_{Tb}}\right)^4 \rho_b^4 + 8\left(\frac{V_R}{Z_{Tb}}\right)^2 \left\{3 - 2\left(\frac{Z_{Tb}}{Z_{Lb}}\right)^2\right\} \rho_b^2 - 16\left\{1 - \left(\frac{Z_{Tb}}{Z_{Lb}}\right)^2\right\} = 0 \quad \dots (1.13)$$

となる。超音波顕微鏡の $V(z)$ 曲線法により V_R は求めることができ、縦波、横波に対する音響インピーダンス Z_{Lb} 、 Z_{Tb} は式 (1.4)、(1.5) より求めることができるので、式 (1.13) は、 ρ_b^2 の 3 次方程式となり、この 3 次方程式を解くことにより密度 ρ_b を得ることができる。

1-2-4 異方性方向の弾性定数の算定方法

図 1.7 において、横弾性係数 G_{ij} 間には次の 3 式の関係がある。

$$G_{11} = G_{12} = G_{13} \quad \dots (1.14)$$

$$G = G_{23} = G_{22} = G_{33} \quad \dots (1.15)$$

$$\frac{1}{\bar{G}} = \frac{1}{6} \sum_{i=1}^3 \frac{1}{G_{ii}} - \frac{3\lambda}{2G(3\lambda + 2G)} \approx \frac{1}{3\lambda + 2G} \quad \dots (1.16)$$

また、各方向に伝搬する表面波の波動は (4.13) 式により定義できる。

$$u_j = \tilde{U}_{jr} \exp \{i(rn_j x_j - \omega t) - \bar{p}_j m_j x_j\} \quad \dots (1.17)$$

式 (1.17) より、 x_1 方向に伝搬する表面波の波動について、以下の 3 式が得られる。

$$u_1 = U_{11} \exp \{i(\gamma x_1 - \omega t) - p_1 x_3\} + U_{12} \exp \{i(\gamma x_1 - \omega t) - p_2 x_3\} \quad \dots (1.18)$$

$$u_2 = 0 \quad \dots (1.19)$$

$$u_3 = U_{31} \exp \{i(\gamma x_1 - \omega t) - p_1 x_3\} + U_{31} \exp \{i(\gamma x_1 - \omega t) - p_2 x_3\} \quad \dots (1.20)$$

また同様に、 x_2 方向に伝搬する表面波の波動について、以下の 3 式が得られる。

$$u_1 = 0 \quad \dots (1.21)$$

$$u_2 = U_{21} \exp \{i(\gamma x_2 - \omega t) - p_1 x_3\} + U_{22} \exp \{i(\gamma x_2 - \omega t) - p_2 x_3\} \quad \dots (1.22)$$

$$u_3 = U_{31} \exp \{i(\gamma x_2 - \omega t) - p_1 x_3\} + U_{32} \exp \{i(\gamma x_2 - \omega t) - p_2 x_3\} \quad \dots (1.23)$$

ここで、直交異方性の弾性構成方程式を次式に示す。

$$\sigma_{ij} = G \left(2 - \frac{G}{G_{11}} \right) \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right) + \delta_{ij} \left\{ \frac{\bar{G}}{3} \left(1 - \frac{G}{G_{11}} + \frac{3\lambda}{3\lambda + 2G} + 2 \frac{G}{\bar{G}} \right) - \frac{2}{3} G \left(2 - \frac{G}{G_{11}} \right) \right\} \frac{\partial u_k}{\partial x_k} \dots (1.24)$$

運動方程式は次式のように表せる。

$$\frac{\partial \sigma_{ij}}{\partial x_j} = \frac{\rho \partial^2 u_i}{\partial t^2} \dots (1.25)$$

弾性構成方程式(1.24)式に各方向により定めた波動方程式(1.18)～(1.23)を代入し、さらに運動方程式(1.25)に代入する。また、境界条件は以下のようになる。

$$\sigma_{33} = \sigma_{13} = \sigma_{23} = 0 \dots (1.26)$$

$$x_3 = 0 \dots (1.27)$$

以上のように、波動方程式、直交異方性の弾性構成方程式、運動方程式を組み合わせ、境界条件を考慮することにより、異方性方向の横弾性係数 G_{11} 、縦弾性係数 E_{11} 、 X_1 - X_3 平面上のポアソン比 ν_1 を決定する事ができる。

(1) 弾性定数

したがって、異方性方向の弾性係数は次式により求める事ができる。

$$\frac{1}{E_{11}} = \frac{1}{2G_{11}} - \frac{1}{2G(3\lambda + 2G)} \dots (1.28)$$

(2) ポアソン比

さらに、異方性方向のポアソン比は各弾性係数を用いて、次式のように得られる。

$$\nu_1 = \frac{E_{11}}{2G_{11}} - 1 \dots (1.29)$$

1-3 スリット装着超音波顕微鏡による骨組織力学特性の異方性測定

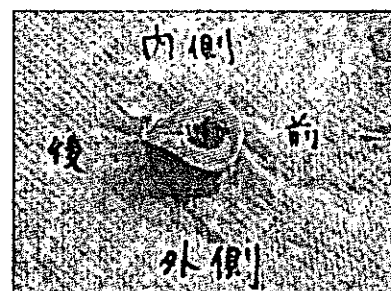
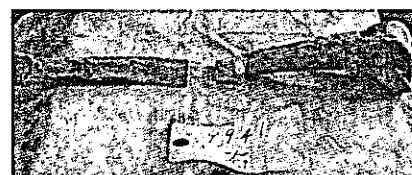
1-3-1 実験目的

高齢者の転倒およびそれに伴う大腿骨骨折は寝たきり状態になる主要な要因であり、要介護者になる原因の第三位に位置するほど重要な問題である。大腿骨骨折の発症にかかわる危険因子として、骨粗鬆症、骨の幾何学特性、力学特性などが上げられる。これらの対策として、栄養学、薬学的アプローチや、計算バイオメカニクスの検討がなされている。また、骨の性質において、骨は環境条件により、その形状、特性を変化させ、異方性をも有する特異的な物質であることが知られている。しかし、力学特性について、物性値は大まかな分類しかされておらず、異方性についてはほとんど考慮されていない。

そこで本研究では、骨を力学的に解明し、医療界に貢献する事を目的に、超音波顕微鏡 (SAM) を用いて骨組織、特に皮質骨の力学特性分布についてレンズ先端にスリットを装着し回転させ、各方向の物性値を測定する事により、異方性の検討を行った。さらに、年齢の異なるサンプルを測定する事により、年齢による骨の力学特性の変化を調べた。

1-3-2 試験サンプル

骨の力学特性と年齢による異方性の傾向の違いを評価するために、ヒト左大腿骨骨幹部 (72歳、女性) とビーグル犬左大腿骨小転子部付近 (生後8ヶ月、オス) の縦断面サンプルを使用した。本来ならば若いヒトの大腿骨を測定し、比較を行うべきだが、献体の入手が非常に困難なために、ビーグル犬の大腿骨を使用する。犬の骨は、人間の骨に力学的特性が近いとしてヒトの骨の代用として実験に頻繁に使用されている。図1.8にヒト左大腿骨骨幹部の測定サンプルに用いた測定位置の画像を示す。本サンプルは大腿骨骨幹部を縦に四分割したもので、具体的には丸で囲ったサンプルを使用した。



測定サンプル

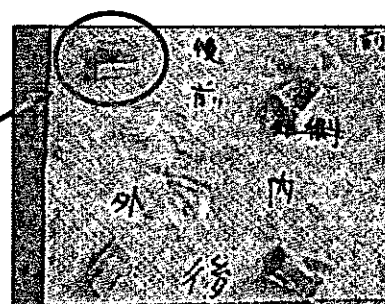


図1.8 ヒト大腿骨骨幹部試験片