

## 牛皮質骨の構造と縦波伝搬速度の異方性について

松川真美<sup>†</sup> 水川裕文<sup>†</sup> 柳谷隆彦<sup>†</sup> 大和雄<sup>‡</sup> 山崎薰<sup>‡</sup> 長野昭<sup>‡</sup>

<sup>†</sup>同志社大学工学部 〒610-0321 京田辺市多々羅都谷 1-3

<sup>‡</sup>浜松医科大学整形外科学教室 〒431-3192 浜松市半田山 1-20-1

E-mail: <sup>†</sup>mmatsuka@mail.doshisha.ac.jp

あらまし 超音波パルス法を用いて、3頭の牛大腿骨皮質骨中の縦波音速異方性を測定した。約1%の不確かさで、管状大腿骨皮質骨を伝搬する3方向(骨軸方向、円周方向、半径方向)の音速分布を詳細に測定した。各方向を伝搬する縦波音速は明らかに測定部位に依存して変化し、皮質骨の異方性が異なることを示した。この音速の異方性は、各部位の微視的構造を反映している。しかし、一部の層状皮質骨では、同様な構造であっても、音速異方性に特徴的な差異がみられた。X線回折法により、これらの骨中のヒドロキシアパタイト(HAO<sub>p</sub>)結晶の配向性を調べたところ、骨軸及び円周方向へのOHA<sub>p</sub>の2軸配向が観測され、結晶配向度の傾向は音速異方性と一致した。

**キーワード** 皮質骨、縦波伝搬速度、異方性、ヒドロキシアパタイト

## Longitudinal wave velocities in bovine cortical bone —Microstructure and anisotropy—

Mami Matsukawa<sup>†</sup> Hirofumi Mizukawa<sup>†</sup> Takahiko Yanagitani<sup>†</sup>

Yu Yamato<sup>‡</sup> Kaoru Yamazaki<sup>‡</sup> and Akira Nagano<sup>‡</sup>

<sup>†</sup> Faculty of Engineering, Doshisha University 1-3 Tatara Miyakodani, Kyotanabe-shi, Kyoto, 610-0321 Japan

<sup>‡</sup> Department of Orthopedic Surgery, Hamamatsu University school of Medicine

1-20-1 Handayama, Hamamatsu-shi, Shizuoka, 431-3192 Japan

E-mail: <sup>†</sup>mmatsuka@mail.doshisha.ac.jp

**Abstract** Distributions of longitudinal wave velocities in three bovine femoral cortical bones were experimentally investigated. With the uncertainty of 1%, velocities in the three directions (Axial, Tangential and Radial) were observed using a conventional ultrasonic pulse technique. The anisotropic velocity distribution strongly depended on the microstructure and the position in the body of femur. In some parts of the bone with plexiform structure, the velocities in the axial and tangential directions showed characteristic changes, which could not be observed as changes in the microstructure. X ray diffractometry implies that this “invisible” change in the anisotropy results from the degree of bi-axial orientation of hydroxyapatite crystallites in the bone.

**Keyword** Cortical bone, Longitudinal wave velocity, Anisotropy, Hydroxyapatite

### 1.はじめに

骨は支持組織として荷重を支え、運動器官の役割を果しながら、体液中のカルシウムバランスを維持する機能を有している。この異なる2つの機能を円滑に行うために、骨は常時代謝による再構築を行っている。この骨代謝のメカニズムでは、荷重や運動などの力学的刺激が関与し、カルシ

ウムバランスの範囲内で、刺激に対して骨が最適な力学的構造となるよう再構築される[1]。この荷重を支える骨幹部の皮質骨(緻密骨)の力学的性質については、これまで超音波法や機械的手法を用いて多くの研究が行われてきた。特に、ウシ皮質骨やヒト皮質骨を対象に、その異方性が報告されている[2-4]。しかし、これらの報告の多く

は、皮質骨の一部についての弾性的性質の評価にとどまっている。常に骨に加えられている力学的刺激に対して、骨がどのように再構築されているのか、特に、再構築の結果、骨全体がどのような力学的構造をとっているのか、弾性的異方性を含めた骨の全体像に関する詳しい報告はあまり見当たらない。

そこで本報告では、例としてウシ大腿骨の骨幹部における縦波超音波音速の分布を詳細に測定し、骨幹部の弾性異方性を明らかにする。

## 2. 試料および測定方法[5]

3頭の36月齢健常牛(Bovine1-3)の左大腿骨の管状骨幹部から中央及び近位(Proximal),遠位(Distal)に30,50mmの位置で幅10mmの環状に皮質骨を切り出した。各環状骨から前方(Anterior:A)後方(Posterior:P)内側(Medial:M)外側(Lateral:L)ほかの計40-56個の試料を採取し、管軸方向(Axial),半径方向(Radial),円周方向(Tangential)に平行面となるよう直方体(各辺3-11mm)に加工し表面研磨した。超音波音速の測定はパルス法を用い、生理食塩水中に保持された試料中を透過するパルス音波の伝搬時間から求めた。測定では自作のPVDFトランスデューサを用い、10MHzの正弦波1波でトランスデューサを駆動した。この音速測定は、試料のAxial方向, Radial方向, Tangential方向について行い、測定の不確かさは約1%と見積もられる。

各試料の密度、骨量(Bone Mineral Density:BMD)は各々アルキメデス法、DXA法(Dual-energy X-ray absorptiometry)で測定した。なお、得られたBMDは単位体積あたりの値である。また、作成した試料の上端(水平断)を2mm切り離して、エタノール固定後、アクリル樹脂に包埋し、この硬組織標本を顕微鏡で観測した。

## 3. 皮質骨の微細構造

大型動物の皮質骨は、外層あるいは内層にあり円環状にとりまく層板骨(Plexiform)と中間層からなる。中間層は内部に血管を含み骨の管軸に平行に縦走するハバース管を中心とするHaversian(Osteonal)構造が存在する。ヒトの皮質骨はほとんどがHaversian構造であるが、大型動物ではPlexiformの割合が大きい。Fig.2に顕微鏡で観察した各構造を示す。今回測定した試料では、これらの構造のほかに、比較的大きな孔組織の構造(Porotic)がみられた。各構造の分布状況の一例をFig.3に示す。図から分かるように、前方ではPlexiform構造の比率が大きい。また、Porotic構造は、遠位の後方外側、あるいは、近

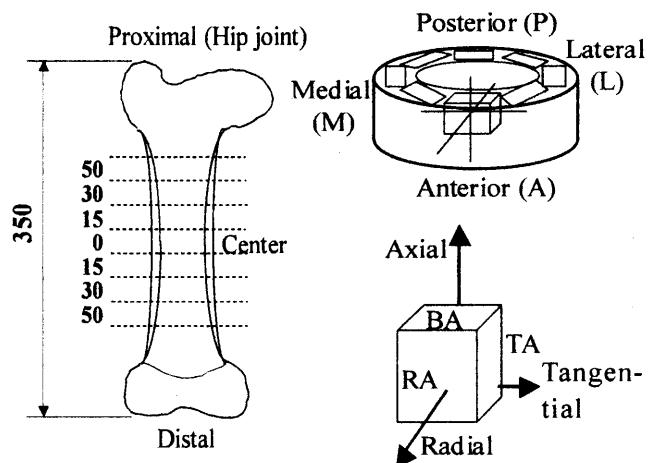


Fig.1 Sample preparation from a bovine femur.  
Unit in mm.

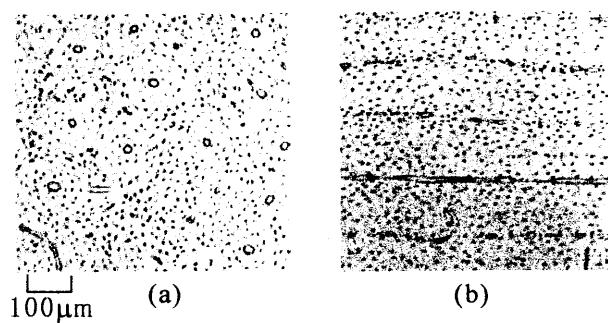


Fig.2 Microscopic structures of bovine cortical bone: (a) Haversian and (b) plexiform structures.

位の後方内側に特徴的にみられた。遠位の後方内側には膝関節にかかる腓腹筋が、近位の後方外側には腸腰筋が付着している。これらの筋肉の貫入によりporotic構造が生じたと考えられる。このような微細構造の分布状況はBovine1-3とも同様であった。

## 4. 結果及び検討

### 4.1. 音速分布と密度、骨量

Fig.4にAxial方向に伝搬する縦波音波の音速分布を示す。Porotic構造を反映し、近位PM、遠位PL付近では音速が大幅に低下した。この部位ではRadial方向やTangential方向の音速も、同様に低値であった。また、Fig.4では、前方の試料で比較的音速が高くなっている。これはAxial方向音速に特徴的な傾向であった。この前方部位では比較的Plexiform構造が多い。Plexiformは成長の速い大型動物が外力に対する適応の一つとしてもつ骨構造である。前方では大荷重を支えるためAxial方向に高弾性なPlexiform構造になったと考えられる。

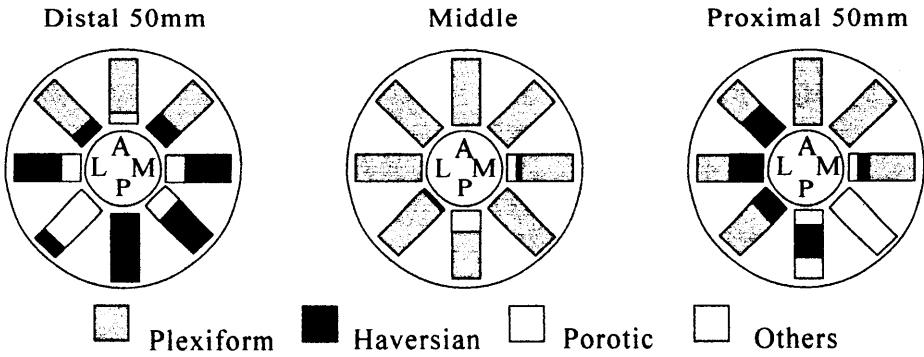


Fig.3 Distribution of characteristic microstructures in a bovine corical bone. (Bovine 1)

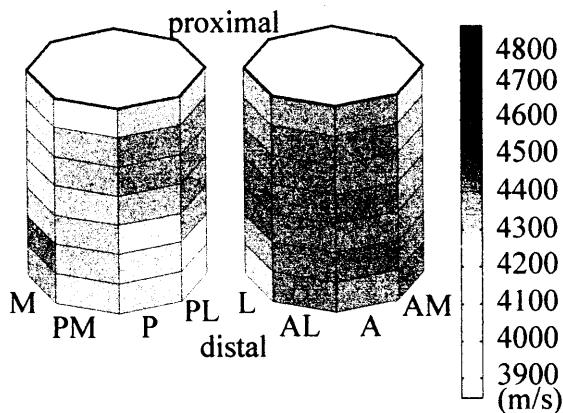


Fig.4 Distribution of longitudinal wave velocities in the axial direction. (Bovine 1)

Fig.5 に全試料の密度と BMD の関係を示す。Mixture (Plexiform と Haversian が混在) 以外の試料は各構造のいずれかが 80% 以上を占めていた。図からわかるように、Bovine1-3 でわずかに傾向が異なるが、ミネラル量を反映する BMD と密度にはほぼ線形な相関がみられる。このように皮質骨では、Plexiform, Haversian, Porotic 構造の順に密度や BMD が低下することがわかる。

各方向の縦波音速も、密度にはほぼ比例して増加した。結果を Fig.6 に示す。音速はすべての試料で Axial 方向がもっとも高く、荷重支持方向の高弾性を示した。また、どの方向においても密度や BMD の高い Plexiform 構造の音速が高く測定された。

##### 5. Plexiform 構造の音速異方性と結晶配向

Fig.6 では、比較的 Axial や Tangential 方向の音速に比較的分散傾向がみられた。Fig.4 の音速分布と比較検討すると、この音速分散は明確に測定試料の部位に依存することがわかった。Fig.7 に前方 (A) あるいは後方内側 (M-PM) の Plexiform 構造試料の音速異方性を示す。

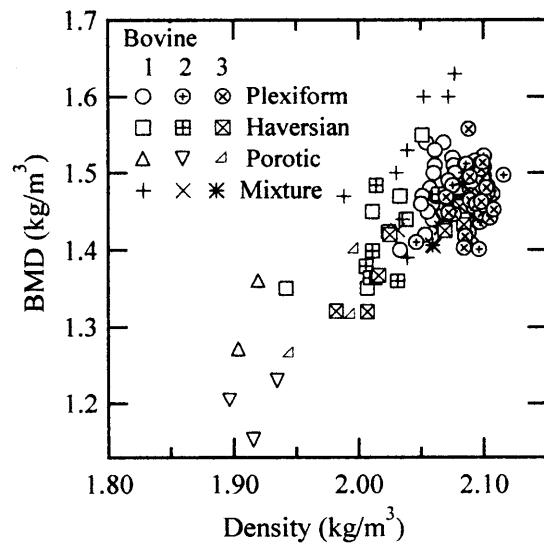


Fig.5 Density and BMD.

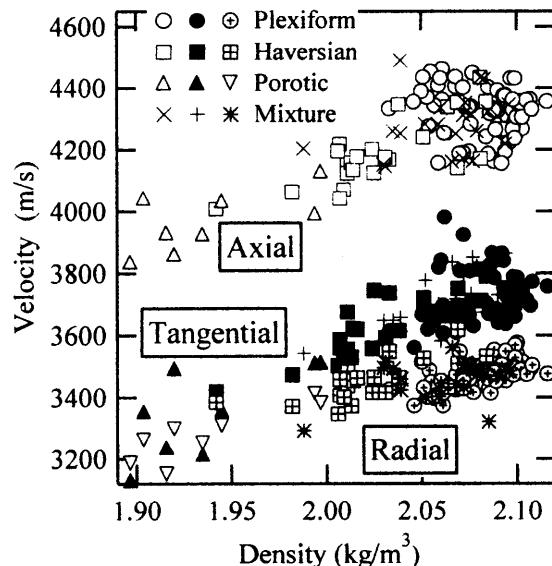


Fig.6 Longitudinal velocities as a function of density.

M-PM 試料群では比較的 Tangential 方向の音速が高いのに対し, A 試料群は比較的低い。Plexiform は Fig.2(b) のように Radial 方向に積層した平板層状骨の集合体である。そこで各群の密度, BMD, 層状骨の平均厚さなど組織学的な微細構造を比較したが、両群に大きな違いはみられなかった。つまり Fig.7 の結果は、骨の弾性的性質が組織学的な差異のみでは決まらないことを示唆している。

皮質骨は微視的には複合材料であり、層状部分はコラーゲンマトリクス(C)にヒドロキシアパタイト(OHAp)が分散した骨基質で構成されている。OHAp 結晶は六方晶であり、c 軸方向に配向する性質をもつ。そこで次に、各群から 3 試料を選び、OHAp 結晶の配向性を試料各面の(2θ-θ)X 線回折測定(RINT2500)により検討した。

Fig.8 に A 群試料の BA 面 TA 面における回折プロファイルを示す。(002)面に明瞭なピークがあり、c 軸配向が認められる。そこで各面での配向性を検討するため、(002)面と(310)面のピーク強度比を算出し、c 軸配向度とした。いずれの試料も BA 面で強い(002)面のピークを示し、Axial 方向への強い結晶配向を示した。ただし、BA 面では M-PM 群のみ有意に c 軸配向が確認された。これは、M-PM 群では、Axial に加えて Tangential 方向にも結晶配向が存在することを示している。c 軸方向に高弾性を示す OHAp 結晶の一軸異方性を考えると、この配向分布は M-PM 群における Tangential 方向の弾性増大を示唆しており、Fig.7 の結果と一致する。

## 6.まとめ

牛大腿骨皮質骨中の縦波音速分布を測定した。縦波音速は密度、BMD にほぼ比例して増加すると共に、組織学的な微細構造に大きく依存し、明らかな異方性を示した。また Plexiform 構造では、組織学的にはほぼ同一であっても、音速異方性が異なる部位が存在した。そこで、これらの部位における OHAp 結晶配向を検討した結果、Axial と Tangential の 2 軸配向がみられ、各部位の配向度の傾向は音速異方性と定性的に一致した。

## 7.謝辞

本研究は、文部科学省学術フロンティア推進事業「医工学研究の新展開」の支援を受けた。ここに記して謝意を表する。

## 文献

- [1] S.F.Lipson, J.L.Katz "The relationship between elastic properties and microstructure of bovine cortical bone," *J.Biomechanics*, Vol.17, pp.231-240, 1984.

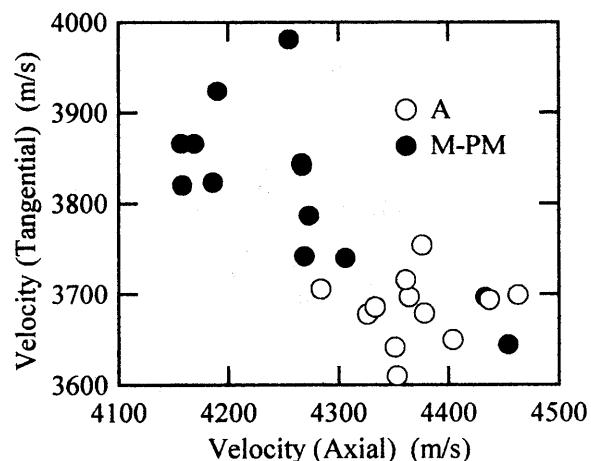


Fig.7 Anisotropy in the bone with plexiform structure.

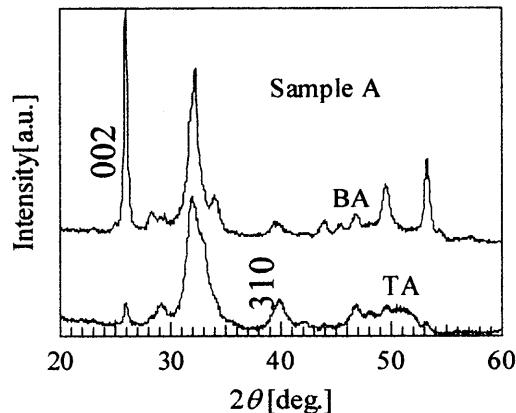


Fig.8 X-ray diffraction pattern.

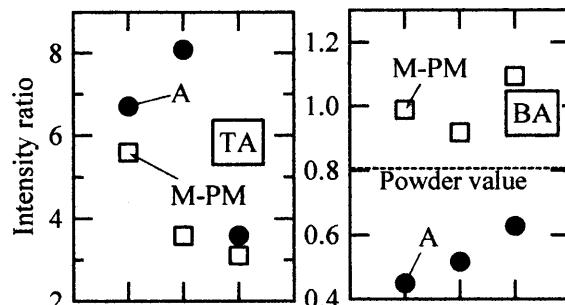


Fig.9 Degree of c-axis orientation.

- [2] S.Lees, J.M.Ahern, M.Leonard, "Parameters influencing the sonic velocity in compact calcified tissues of various species," *J.Acoust.Soc.Am.*, Vol.74, pp.28-33, 1983.
- [3] S.A.Goss, R.L.Johnston, F.Dunn, "Compilation of empirical ultrasonic properties of mammalian tissues.II," *J.Acoust.Soc.Am.*, Vol.68, pp.93-108, 1980.
- [4] 片山傳生, 山本英毅, 徳田周二, "生体荷重支持構造からのバイオミメティック材料の提案", *材料*, Vol.53, pp.944-999, 2004.
- [5] Y. Yamato, H.Kataoka, M.Matsukawa, K.Yamazaki, T.Otani, A.Nagano, "Distribution of longitudinal wave velocities in bovine cortical bone in vitro," *Jpn.J.Appl.Phys.*, Vol.44, pp.4622-4624, 2005.