

超音波を用いた皮質骨の評価 —牛大腿骨およびヒト大腿骨頸部について—

片岡 秀夫[†] 松川 真美 大谷 隆彦 大和 雄[‡] 山崎 薫 長野 昭

[†] 同志社大学工学部

〒610-0321 京田辺市多々羅都谷 1-3

[‡] 浜松医科大学整形外科学教室

〒431-3192 浜松市半田山 1 丁目 20-1

E-mail: [†] dtd0119@mail4.doshisha.ac.jp

あらまし 超音波による骨粗鬆症診断法を確立するためには、骨構造と超音波特性の関係を把握することが重要である。本研究ではヒト大腿骨頸部皮質骨と牛大腿骨皮質骨について、形態学的評価による構造と音速の関係を検討した。管状皮質骨の管径方向の音速を測定した結果、I) 皮質骨（ヒト）中の音速と間隙率に相関関係があること、II) 皮質骨（牛）内に音速分布があること、III) 皮質骨（牛）の構造により音速が変化すること、がわかった。

キーワード 皮質骨, 大腿骨, 音速, 骨構造

Evaluation of the cortical bone using ultrasonic waves — On the bovine femur and human femoral neck —

Hideo KATAOKA[†] Mami MATSUKAWA Takahiko OTANI
Yu YAMATO[‡] Kaoru YAMAZAKI and Akira NAGANO

[†] Faculty of Engineering, Doshisha University

1-3 Tatara-miyakodani, Kyotanabe-shi, Kyoto, 610-0321 Japan

[‡] Department of Orthopaedic Surgery, Hamamatsu University School of Medicine
1-20-1 Handayama Hamamatsu-shi, Shizuoka, 431-3192 Japan

E-mail: [†] dtd0119@mail4.doshisha.ac.jp,

Abstract In order to diagnose osteoporosis by ultrasonic waves, it is important to clarify the relation between bone structures and acoustical characteristics. In this study, we have compared structures of cortical bone with ultrasonic wave velocity, using specimens which were obtained from human femoral neck and bovine femur. The results from ultrasonic wave propagation in the radial direction of the bone are summarized as follows. I) There is a clear correlation between wave velocity and Intracortical Porosity (ICP) in case of human cortical bone. II) Wave velocity depends on the measured part of the bone in case of Bovine cortical bone. III) Due to the structure, wave velocity shows difference in case of bovine cortical bone.

Keyword cortical bone, femur, wave velocity, structure of bone

1. はじめに

現在骨粗鬆症の診断は、2種類のエネルギーのX線を透過することで骨成分を定量化する dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) 法で測定する腰椎の Bone Mineral Density (BMD) が基準となっている。しかし DXA 法は X 線被爆、装置が大きく簡便性に乏しい、装置が高価であるなどの問題点に加え、骨構造の力学的特性を反映しない計測法である。そのため無侵襲、簡便かつ骨構造を反映する方法として超音波が注目され種々の超音波測定装置が開発されている。

今日までの超音波骨測定の臨床的研究により、超音波骨計測値（音速、減衰）は閉経の影響を受けて加齢的推移をすること、脊椎骨折を有する骨粗鬆症の症例や大腿骨頸部骨折の患者では超音波計測値が健常者に比して有意に低値を呈することなどが報告されている。また大腿骨頸部骨折発症リスクを評価する能力が DXA 法に劣らないことが明らかにされている。^[1]

現在の超音波評価法の最大の課題は、骨構造、骨質の力学的特性を反映する最も良い指標がまだ得られていない点である。基礎的研究では海綿骨中の固液共存状態を伝搬する超音波特性と骨構造の関連が指摘されており、音速および減衰と骨量との高い相関が見出されている。^[2]しかし皮質骨に関してはいまだ十分に研究は行われていない。そこで本研究では、ヒト大腿骨頸部と牛大腿骨の皮質骨について、音速と構造の関係を検討したので報告する。

2. 皮質骨の基本構造^[3]

皮質骨の基本構造を Fig.1 に示す。

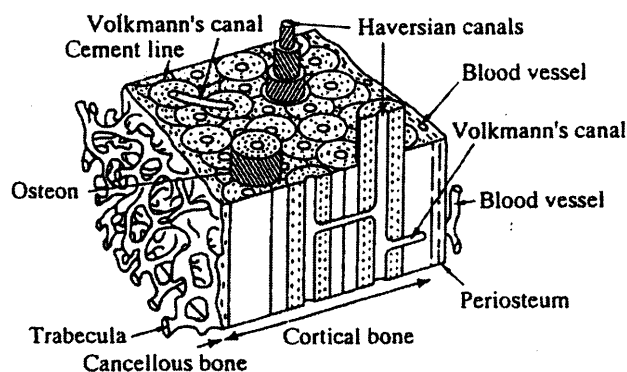


Fig.1 Structure of cortical bone.

大型動物の皮質骨は外層、内層および中間層の3つの層からなる。外層と内層には円周状に配向した層板骨があり骨膜性骨、内骨膜性骨と呼ばれる。そして中間層は骨の長軸に沿って縦走するハバース管（直径 20～100 μm ）とハバース管同士を連結するフォルクマン管の2つの管腔構造を有しており、それらの内部には血管が走行している。そしてハバース管を中心とする同心円状の層板構造があり、これをハバース系（オステオン：osteon）という。またオステオンの間に介在する骨組織は介在層板系とよばれる。皮質骨の3層構造は動物により割合が異なり、ヒトではほとんどを中間層（ハバース系）が占めるが、牛では外層（骨膜性骨）の割合が大きい。

それぞれの層板の中は骨細胞と石灰化した基質があり、膠原線維を含んでおり、それらによって硬度と弾性が得られている。生体内ではハバース管の周囲を中心に骨組織の吸収と新生が行われており、常に古いオステオンが新しいオステオンに造りかえられている（リモデリング）。オステオンのうち吸収も再生も行われていないものを休止期オステオンと呼ぶ。皮質骨では加齢によりリモデリングのバランスが崩れ骨の吸収が優位になりハバース管の開大などが生じ、骨粗鬆化が生じると考えられている。

3. 実験装置と測定方法

3.1 実験装置

実験装置を Fig.2 に示す。

音波の送波器、受波器として PVDF 圧電膜（クレハ化学製）を真鍮のバック材に貼り付けた自作の円柱型トランスデューサ（送受波面：直径 8mm）を使用す

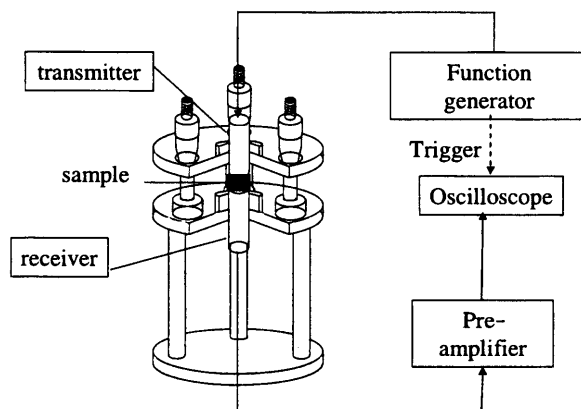


Fig.2 Measurement system.

る。発振器 (Agilent 33250A) より周波数 10MHz, 10Vp-p のバースト正弦波を出力し、送波側トランスデューサに印加する。受波側トランスデューサで受波した音波をプリアンプ (NF BX-31A) で増幅後、デジタルオシロスコープ (TDS520C) で波形の観測を行った。

3.2 測定方法

トランスデューサ間に脱気した純水を満たしバースト 10 波の正弦波を送波する。受波波形が最大振幅となるように、送波器側に取り付けた 3 本のマイクロメーターヘッドを調整することでトランスデューサ間の平行度を高める。この状態で、発振器よりバースト 1 波の正弦波を送波する。直接受波側のトランスデューサに到達した透過波と、送波、受波のトランスデューサ表面で計 2 回反射した反射波の時間差を測定する。Greenspan-Tschiegg の実験式に従う純水の音速と測定した時間差から、下式によってトランスデューサ間距離 d_T が求まる。

$$d_T = \frac{1}{2} \Delta t_w \cdot c_w \quad (1)$$

ここで、 c_w は純水の音速、 Δt_w は透過波と反射波の時間差を示す。

実際の骨の音速測定では組織の変化を防ぐために、トランスデューサ間を生理食塩水 (normal saline solution: nss) で満たす。この生理食塩水の音速を求める。間隔を d_T に固定したまま、トランスデューサ間に脱気した生理食塩水を満たし、バースト 1 波の正弦波を送波する。生理食塩水と純水の透過波の到達時間差を測定し、下式に代入することで生理食塩水の音速が求まる。

$$c_{nss} = \frac{c_w}{1 - c_w (\Delta t_{nss} / d_T)} \quad (2)$$

ここで c_{nss} は生理食塩水の音速、 Δt_{nss} は生理食塩水と純水の透過波の到達時間差を示す。

次に試料の音速を求める。生理食塩水の音速を基準として、トランスデューサ間が生理食塩水の場合と試料を設置した場合の透過波の到達時間差を利用して、以下の式を用いて算出した。

$$c_s = \frac{c_{nss}}{1 - c_{nss} (\Delta t_s / d_s)} \quad (3)$$

ここで c_s は試料の音速、 Δt_s は生理食塩水のみを透過した波と生理食塩水と試料を透過した波の到達時間差、 d_s は試料の厚さを示す。

3.3 音速測定について

3.3.1 試料厚さの影響

試料の厚さはマイクロメータを用いて複数回の測定を行い、その平均値を用いた。厚さのばらつきによる音速の誤差は、今回作製した試料の中で最も薄い試料において、約 13m/s である。

3.3.2 内部構造の不均一性の影響

皮質骨の内部構造の不均一性を調べるために、音速を測定する際に同一試料について表→裏・裏→表と伝搬方向を変えてそれぞれ 2 回ずつ、計 4 回測定した。ヒトの皮質骨の 19 サンプルにおいて、標準偏差は最大で 32m/s であった。牛の皮質骨では、標準偏差は最大で 22m/s であった。音速のばらつきに対応してヒトの試料では、肉眼的にも明らかに間隙などの影響により骨の構造が不均一であった。なお、どちらの試料においても表・裏で、音速値に有意な差は見られなかった。

3.3.3 温度の影響

実験はすべて水温が 22.5℃ から 23.5℃ の間で、かつ皮質骨内部の温度を安定させるため、冷凍保存から取り出して室温で 2.5 時間以上放置した後に実験を行った。同一試料で解凍開始後 2.5 時間から 6.5 時間まで 0.5 時間間隔で測定した結果、この範囲における音速の変化は 10m/s であった。

3.3.4 周波数の影響

音速の周波数依存性について、同一試料で 5MHz から 20MHz まで 2.5MHz 間隔で測定したが、この範囲において音速の変化は 10m/s であり、明瞭な周波数依存性は見られなかった。

3.3.1~3.3.4 の結果より内部構造の不均一性が音速に最も影響することがわかったが、相対誤差にして 1% 程度であった。

4. 結果と考察

4.1 ヒト大腿骨頸部

4.1.1 試料と方法

大腿骨頸部骨折を受傷した骨粗鬆症患者の人工骨頭置換術施行時に、通常廃棄される大腿骨頸部を本人および家族の同意を得て採取した。症例は 19 例 (男性 3 例, 女性 16 例) で平均年齢 79.6 歳 (52-92 歳) であった。環状皮質骨の頸部内側 (Fig.3) をできるだけ厚く加工し、円周方向の平面を平行となるように研磨し、

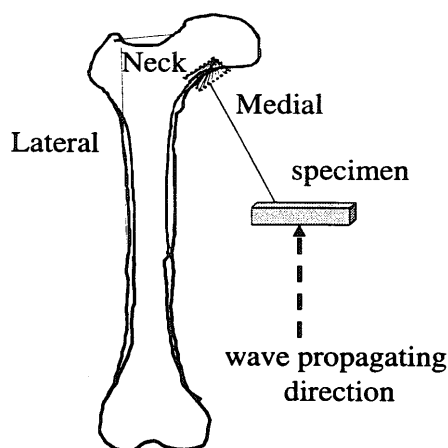


Fig.3 Human femoral neck.

試料を作成した。完成した試料は厚さ 1~3mm であった。音速は音波を半径方向に透過させて測定した。

また頸部内側の皮質骨の一部をエタノール固定後、アクリル樹脂に包埋、水平断面に厚さ 30 μm の研磨硬組織標本を作成した。硬組織標本は顕微鏡下にコンピュータに取り込み画像計測ソフト (NIH image) を用いて形態学的解析した。組織解析には Barth の皮質骨評価法^[4]を用い、以下の項目について計測した。

(1) Osteon Density: 単位面積あたりの休止期オステオンの個数

(2) Osteonal Area: 休止期オステオン 1 つあたりの平均面積 (1), (2) はオステオン構造とモデリングの指標となる。

(3) Intracortical Porosity (ICP): 間隙率

また加工した試料を DXA 法 (QDR-1000; Hologic 社) で計測し Bone Mineral Density (BMD) を求め、試料の厚さで除することで単位体積あたりの値とした。

4.1.2 結果と考察

Fig.4 に骨を透過したパルス音波の波形の一例を示す。ヒトの皮質骨中の音速は 3358m/s~3603m/s であり、およそ文献値^[5]と一致した。音速と間隙率の間には緩やかな負の相関関係が見られた。(Fig.5) 音速と BMD の間には明らかな関係は見られなかった。(Fig.6) また、BMD と間隙率の間には明らかな相関はなかった。他の形態学的パラメータと音速の間にはいずれも有意な関係は見られなかった。

正常皮質骨内に存在する間隙はハバース管とハバース管同士を連結するフォルクマン管である。だが皮質骨に骨粗鬆化が生じるとハバース管の周囲を中心に骨吸収が大きくなり、結果としてハバース管の径は増大

し亀裂のような間隙となってくる。音速はこのようにして生じる直径 20~200 μm 程の間隙の程度をよく反映している。

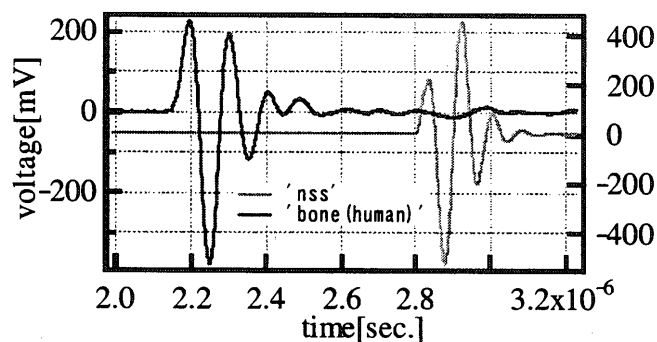


Fig.4 Observed wave forms
(passed through nss or nss and bone) .

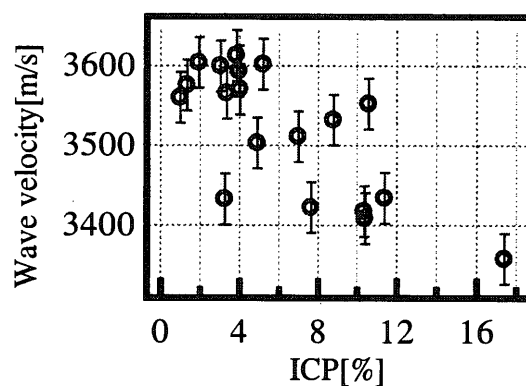


Fig.5 Relation between wave velocity and ICP.

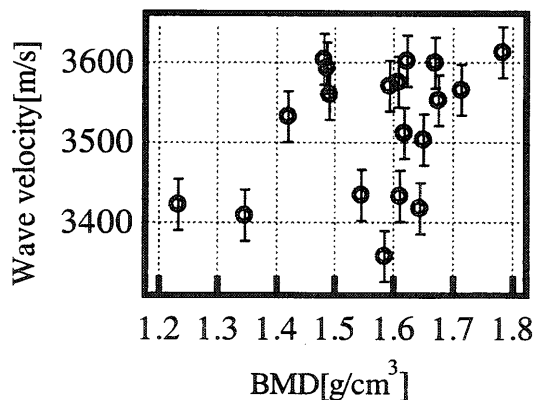


Fig.6 Relation between wave velocity and BMD.

4.2 牛大腿骨

4.2.1 試料と方法

牛の右大腿骨の長軸方向の骨幹部の中心および中心から上部、下部にそれぞれ 5cm の位置にある部位から幅 10mm の環状に皮質骨を切り出した。これらの試料から水平断面で前 (A) 後 (P) 内 (M) 外 (L) および斜方向の一部位 8 カ所、計 24 カ所を採取し、皮質骨の円周方向に平行面ができるように加工し、表面を研磨した。(Fig.7) 完成した試料は厚さ 3~10mm であった。音速は音波を半径方向に透過させて測定した。

また作成した試験片の上端 (水平断) を 2mm 切離しエタノール固定後、アクリル樹脂に包埋し、硬組織学標本を作成し顕微鏡で観測した。

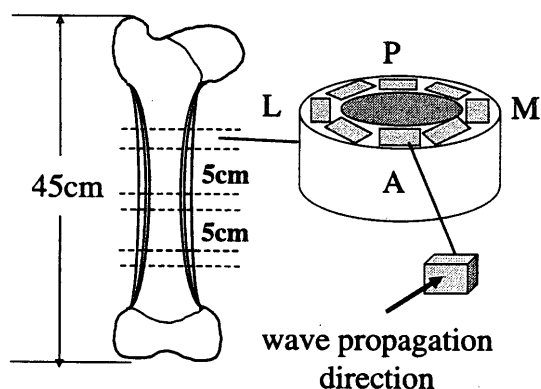


Fig.7 Bovine femur.

4.2.2 結果と考察

Fig.8 に骨を透過したパルス音波の波形の一例を示す。Fig.9 に微細構造の顕微鏡写真を示す。Fig.10 に上述の試料の音速分布を示す。

Fig.10 より牛の皮質骨中の音速は 3300m/s から 3650m/s の範囲にあり、部位により 10% 程度異なることが確認できる。またこれらの値は過去に報告されている牛皮質骨中の音速とほぼ一致している。^[6] 特に音速が低い部分は骨膜性骨、オステオン構造にかかわらず間隙が多く見られたことが影響していると考えられる。

硬組織標本より、長軸方向の骨幹部の中心では骨膜性骨の層状構造のみが見られる部分が多く、上部・下部では構造が一様ではなく、多くの場合、皮質骨の内側がオステオン構造で外側は骨膜性骨の層状構造となっていた。(Fig.11) そこで、環状の内側から少しずつ骨を削り骨中の音速の変化を測定した。

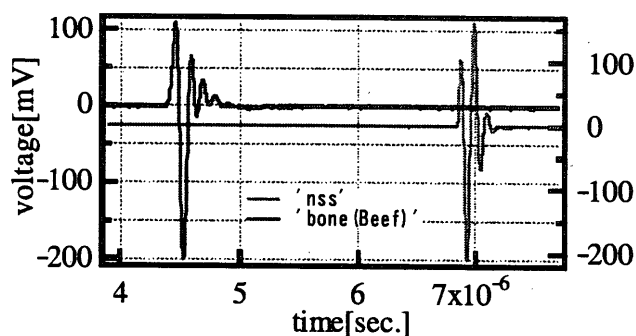


Fig.8 Observed wave forms
(passed through nss or nss and bone) .

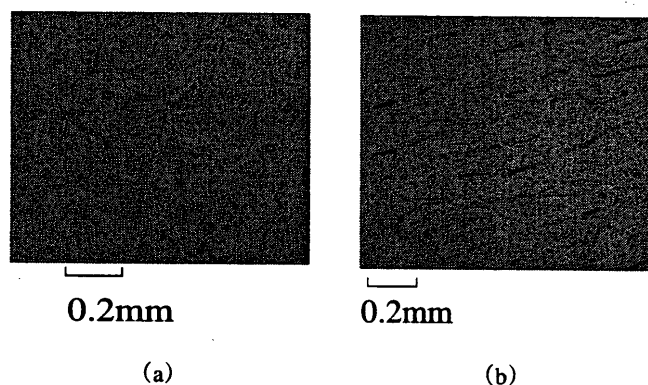


Fig.9 Bone structures. (Photo)
(a) osteonal structure.
(b) circumferential lamellar structure.

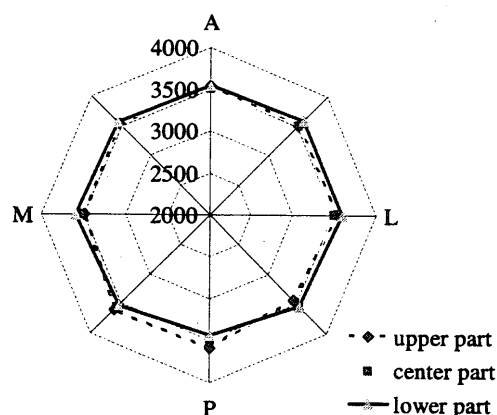


Fig.10 Wave velocity distribution.

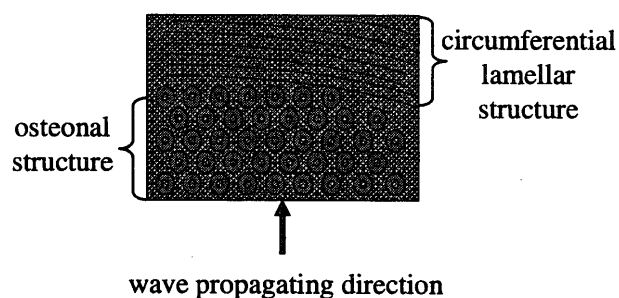


Fig.11 A model of cortical bone.

骨膜性骨のみが多い骨幹部の中心では削っても音速に変化が見られないものが多かった。2層構造を持つ上部・下部の試料では内側のオステオン構造の部分の削るに従い、音速が変化する場合は多かった。(Fig.12) 得られた音速変化から、平均的なオステオン構造と骨膜性骨の層状構造の部分の音速を概算すると、それぞれ 3662m/s, 3497m/s で、オステオン部分の方が高い音速を示すことがわかった。

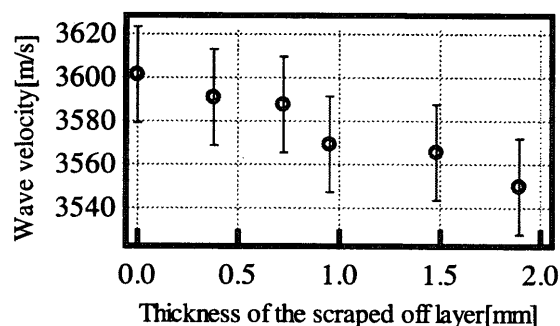


Fig.12 Wave velocity as a function of thickness of the scraped layer.

5. まとめ

ヒト大腿骨頸部皮質骨について、骨粗鬆化により増大する間隙率と半径方向の音速の間に相関関係があることがわかった。また、BMD やオステオンの数などと音速には相関関係は見られなかった。

牛大腿骨では半径方向の音速が 3300m/s から 3650m/s の範囲で、部位により異なることがわかった。また、皮質骨を形成する微細構造のうち、骨膜性骨の層状構造に比べオステオン構造の音速が速いことがわかった。これらの結果から、骨粗鬆症診断に音速を用いる際には、海綿骨に加えて測定部位の皮質骨の音速を考慮することにより、精度の高い診断が可能となると考えられる。

参考文献

- [1] D. Hans and P. Schott, "Ultrasonographic heel measurements to predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS prospective study," *Lancet*, vol.348, pp.511-514 (1996) .
- [2] A. Hosokawa and T. Otani, "Acoustic anisotropy in bovine cancellous bone," *J. Acoust. Soc. Am*, vol.103, pp.2718-2722 (1998) .
- [3] 山崎友裕 大野達司 田中正夫 平尾雅彦, "超音波による皮質骨の異方性弾性定数の測定" 非破壊検査, vol.49, pp.637-643 (2000) .
- [4] R. Barth and J. Williams and F. Kaplan, "Osteon morphometry in females with femoral neck fractures," *clin.orthop*, vol.283, pp.178-186 (1992) .
- [5] S. A. Goss and R. L. Johnston and F. Dunn, "Comprehensive compilation of empirical ultrasonic properties of mammalian tissues," *J. Acoust. Soc. Am*, vol.64, pp. 423-457 (1978) .
- [6] S. B. Lang, "Ultrasonic Method for Measuring Elastic Coefficients of Bone and Results on Fresh and Dried Bovine Bones," *IEEE trans. bio-medical engineering BME-17*, pp.101-105 (1970) .