

An Experimental Study on the Quantitative Relation between Mechanical Stimuli and Bone Formation

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8370

力学的刺激による骨形成に関する実験的研究

金沢大学医学部整形外科講座 (主任: 富田勝郎教授)

酒 井 康 一 郎

(平成4年4月28日受付)

骨の形成や吸収に力学的刺激が関与していることは明らかであるが、これらの量的関係についてはいまだ不明である。この量的関係を明らかにするために以下の実験を行った。まず荷重量の調節が可能な力学的刺激装置を製作した。モーターとカムを利用したこの装置は0.5Hzの矩形波の間欠的荷重を与えることが可能である。次に30羽の家兎脛骨に直径2mmのステンレス製ピンを2本刺入し、その中央に直径3mmの円孔を作成した。このピンを力学的刺激装置に接続し、長軸方向に55Nの間欠的圧縮荷重を1日1時間毎日与え、2, 4, 6週間後に屠殺し脱灰および非脱灰標本を作成した。荷重時の脛骨のひずみ分布を求めるために3次元有限要素法解析を用いた。その結果円孔より離れた部位には約100 μ strainの圧縮ひずみが生じており、また円孔辺縁には応力集中により0~800 μ strainの圧縮ひずみと0~300 μ strainの引張ひずみが生じていた。これらの3次元有限要素法解析結果と組織像を比較すると、刺激後2週間で300~800 μ strainの圧縮ひずみを生じた部位に早期に骨形成を認め、0~300 μ strainの圧縮ひずみと0~300 μ strainの引張ひずみを生じた部位には骨形成を認めなかった。間欠的軸圧荷重を与えなくても4~6週間後には骨形成が生じるが、同時に皮質骨の骨粗鬆化を生じた。以上より、骨形成と骨吸収の平衡状態より骨形成に移行するひずみ量は300~800 μ strainの圧縮ひずみの間にあり、また100~300 μ strainの圧縮ひずみは骨吸収を抑制することが示唆された。

key words mechanical stimulus, bone formation, finite element method

骨の形成や吸収に力学的刺激が関与していることは明らかであるが、力学的刺激とそれに対する骨の反応の量的関係についてはいまだ不明である。骨折の治療において骨癒合を得るためには強力な固定が必要であるとされてきたが^{9,10}、近年では骨癒合の促進には骨折面での間欠的な荷重が重要視されている^{11,12}。また人工関節置換術において人工材料と骨の間のゆるみ(loosening)や応力緩和効果(stress shielding)¹³による骨吸収は重要な合併症である。これらを防止するためには骨吸収を生じにくい応力場を形成し、さらには骨形成に有利な骨折治療法の開発や人工関節の設計を行うことが理想である。そのためにはどのような大きさの力学的刺激が骨形成を促進し、また骨吸収を生じるのかを知らなければならない。本研究の目的はこのような力学的刺激と骨形成との量的関係を明らかにすることである。従って、本実験では家兎脛骨に力学的刺激を与え、その際に生じるひずみを3次元有限要素法(three dimensional finite element method, 3D-FEM)により解析し、これと力学的刺激に対する骨形成を組織形態学的に比較検討した。

材料および方法

I. 実験

動物実験には成熟家兎30羽(日本白色ウサギ, 雌, 平均体重2.8 \pm 0.2kg)を用いた。麻酔にはペントバルビタールナトリウムを使用した。初回投与として30mg/kgを耳介静脈より注入し、以後術中の麻酔深度により適宜追加投与を行った。

右下腿の内側に約8cmの皮切を行い、骨膜を切開し脛骨の全周にわたって剝離した。家兎の脛骨と腓骨は脛骨のほぼ中央で癒合しY字状になっており、脛骨の荷重実験において腓骨は妨げとなるためこれを切除した。脛骨の中極端より15mmおよび85mm末梢に、前額面で脛骨軸に垂直に直径2mmのドリル孔を皮質骨に作成した。このドリル孔には直径2mm, 長さ70mmのステンレス製固定ピンを刺入した。この2本の固定ピンを介して脛骨の長軸方向に荷重を与えた。さらに脛骨中極端より50mm末梢すなわち2本の固定ピンの中間点でピンと同一平面上に直径3mmの円孔を作成した(図1)。このような円孔の存在下で骨軸方向に荷重を与えた場合には、応力集中¹⁴により円孔周辺には円孔より離れた部位に比べてはるかに大きな圧縮ひずみあるいは引張ひずみを生じることができる。創を洗浄のち、骨膜は吸収糸で、また皮膚はナイロン糸で縫合を行った。術後の固定ピンの固定は2本のアクリル棒とネジで行った(図2)。また右下肢の運動を抑制し実験期間中の荷重を避けるために、大腿から足尖までギプスで固定した。力学的刺激は後述する装置によりピンを介して行った。

II. 力学的刺激装置

家兎脛骨の長軸方向に一定の間欠的圧縮荷重を与えるために、荷重量を一定にコントロールすることが可能な力学的刺激装置を製作した(図3)。この装置の駆動源はモーター51K90GS-A₂F(オリエント・モーター, 千葉)で、変速機5GS60K(オリエント・モーター)を介して接続したカムに

Abbreviations: CMR, contact microradiography; CT, computerized tomography; 3D-FEM, three dimensional finite element method; Tc, tetracycline; G6PD, glucose-6-phosphate dehydrogenase

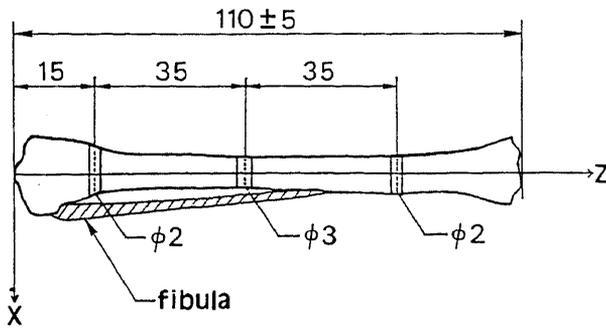


Fig. 1. Schema of the rabbit tibiae. In the experiment, fibulae were excised. Two holes 2mm in diameter were drilled perpendicular to the tibial axis at an interval of 70mm, 15mm and 85mm from the proximal end of the tibiae, respectively. A third hole of 3mm in diameter was drilled halfway between the previous two holes in order to produce a wide range of strain by utilizing the stress concentration effect of the hole.

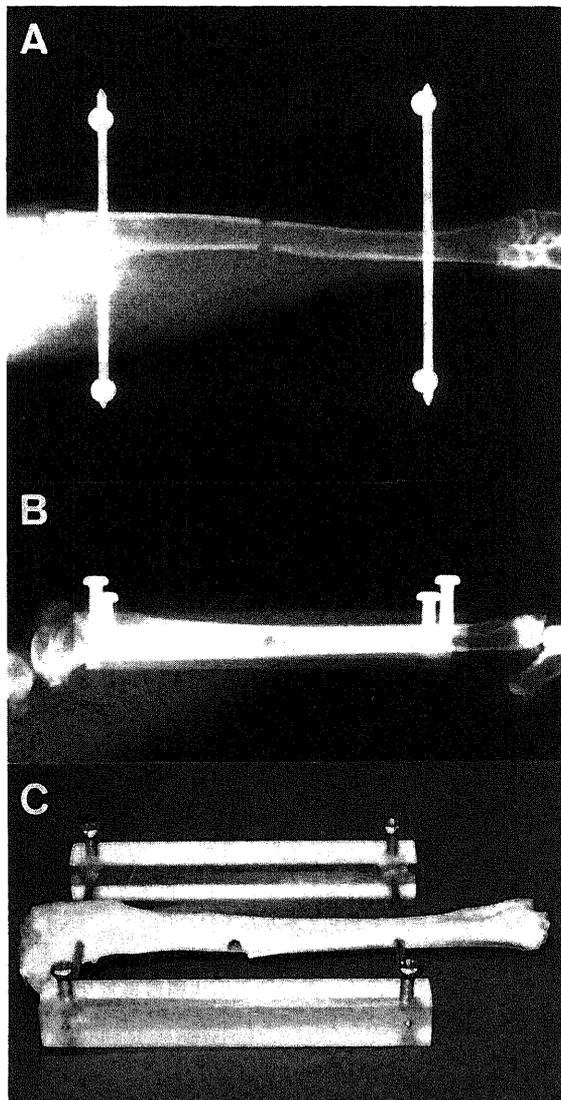


Fig. 2. Radiographs after operation and demonstrable photograph. Two pins 2mm in diameter were inserted perpendicular to the tibial axis. A: anteroposterior view. B: lateral view. C: the rabbit tibia is fixed with two acrylic bars.

30rpm (0.5Hz) の回転を与える。カムは支柱に接しており、カムの回転により支柱は同じ周期で往復運動をする。家兎脛骨を貫通したステンレス製の創外固定ピンを支柱に固定し、支柱を往復運動させることにより脛骨に間欠的な荷重を与えることができ、支柱間距離とカムの形状を変化させることにより任意の荷重値を設定することが可能である。本実験における荷重は使用した家兎の平均体重の約2倍である5.6kgf (55N) に設定し、実験期間中はこの荷重が一定となるように調整を行った。そのためにまず同ステンレスピンの荷重たわみ曲線を万能試験機(島津オートグラフ 2000C, 島津, 京都)を用いた4点曲げ試験より求めた。支持間隔は50mm, 荷重間隔は15mmで、たわみ

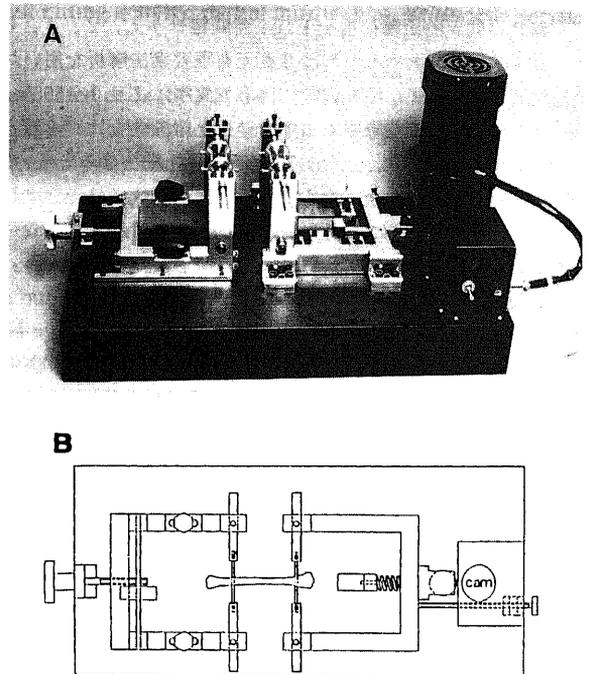


Fig. 3. Mechanical stimulator. Photograph (A) and schema (B) of the stimulator. Two pins are attached to each pin holder. One holder (left) is fixed while the other holder cyclically moves parallel to the longitudinal axis of the tibia so that the distance of movement can be controlled.

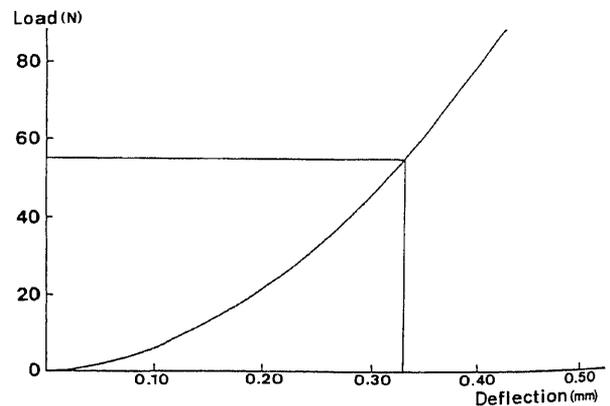


Fig. 4. Load-deflection curve of the pin by four-points bending test. When load of 55N is applied to the pin, the deflection at the point of 15mm from the center of the pin is 0.33mm.

量の計測部位はピンの中央より 15mm の位置とした。その理由はこの位置が家兎の皮膚の近傍で、より離れた部位に比べてたわみ量が大きく測定誤差が小さいからである。4 点曲げ試験の結果、55N の横荷重がピンに与えられた場合のたわみは 0.33mm であった (図 4)。これより実験期間中同地点のピンのたわみをレーザー式変位計 (センサーヘッド LB-01, コントローラー LB-60, キーエンス, 大阪) で計測し、そのデータ処理としてデータロガー UCAM-10A (共和電業, 東京) とマイコン PC-9801 (NEC, 東京) を使用し、実験中はたわみ量を経時的 (4 回/秒) に計測してこれが常に 0.33mm に維持されるように装置の支柱間距離の調整を行い、常に一定の荷重 (55N) が加わるようにした。

図 5 は摘出した家兎脛骨 (円孔は作製していない) の骨幹中央部の内側皮質骨表面にひずみゲージ KFC-1-C1-11 (共和電業) を貼付し、本実験と同様にピンを刺入して 55N の間欠的軸圧縮荷重を力学的刺激装置により与えて生じたひずみを示す。本刺激装置により与えられた荷重は 0.5Hz の矩形波で、55N の圧縮荷重により約 100 μ strain の圧縮ひずみを生じていることがわかる。

Ⅲ. 力学的刺激

家兎 30 羽を刺激群 (E 群: experimental group) と対照群 (C 群: control group) の 2 群にわけた。さらにそれぞれ 2 週群 (E 2, C 2), 4 週群 (E 4, C 4), 6 週群 (E 6, C 6) の計 6 群にわけ、各群とも 5 羽ずつとした。それぞれ実験開始後 2 週, 4 週, 6 週間後にペントバルビタールナトリウムを静脈内投与し屠殺した。

E 群では術後翌日より屠殺日まで、55N の軸圧負荷を 0.5 Hz で 1 日 1 時間 (1800 回) 毎日与えた (図 6)。刺激を与えない間はピンを 2 本のアクリル棒で創外固定しケージの中で飼育した。C 群では力学的刺激を与えず、創外固定とギプス固定のままケージの中で飼育した。

Ⅳ. 組織学的評価

円孔周辺部における骨形成を観察するために脱灰標本と非脱灰標本を作成した。脱灰標本には各群 5 羽のうち 3 羽ずつ使用した。屠殺後脛骨を取り出し軟部組織を除去後 10% ホルマリンで固定し、プランクリュクロ脱灰液 (和光純薬, 大阪) にて脱灰ののち HE 染色を行った。切片作成は矢状面すなわち円孔をなす面と平行な面で行った。この標本から円孔辺縁のどの部位に

骨形成が生じているかを観察した。

非脱灰標本においては各群の 2 羽にテトラサイクリン (tetracycline, Tc) (日本レダリー, 東京) によるラベリングを行った。各群ともテトラサイクリン 30mg/kg/day を屠殺 5 日前より 3 日間投与した。固定は 70% アルコールにて 4 週間以上行い、以後は渡辺ら¹³⁾の方法に従ってアセトンで脱水しメチルメタクリレートにて包埋した。切片作成面は円孔部での脛骨の横断面とした。薄切切片作成は K 型マイクローム (Jung, Heidelberg, Germany) を使用し 60 μ m の硬組織標本を作成した。次に SOFTEX-CSM (ソフテックス, 東京) を用いて顕微 X 線撮影 (contact microradiography, CMR) を行った。撮影条件は一次電圧が 90V, 電流は 3mA, 露光時間は 3 分とした。フィルムは Type 649-0 (ソフテックス) を用いた。さらに同一標本をスピードラップ (マルトー, 東京) で 30 μ m まで研磨し蛍光

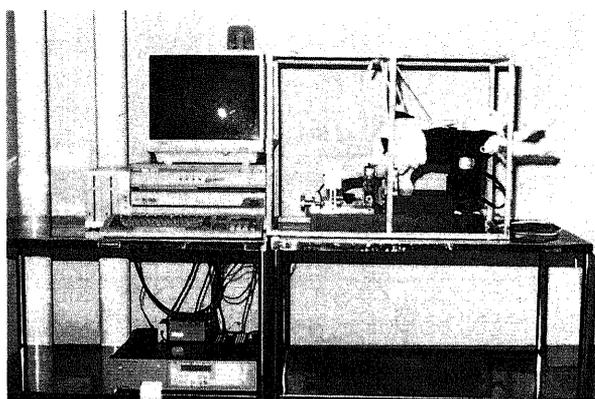


Fig. 6. Set up of the experiment. The rabbit's tibia is fixed to the stimulator. The amount of load is adjusted by a computerized laser displacement sensor.

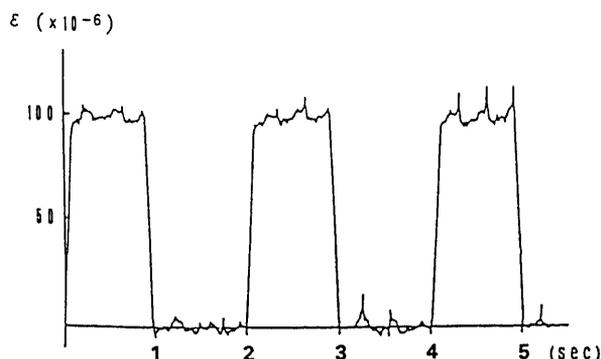


Fig. 5. Strain on the medial cortical surface of the tibial shaft. When an axial compressive pulse load of 55N is applied to rabbit tibia without 3mm hole in vitro, about 100 microstrains are engendered on the surface of the cortex. Ordinate; strain, abscissa; time.

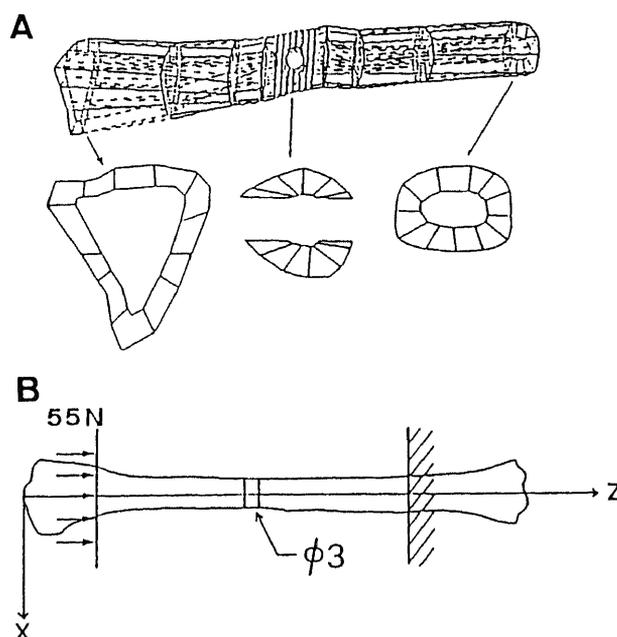


Fig. 7. Diagram of analytical model (A) and loading condition (B). The model of three dimensional finite element method is divided into 176 elements with 1346 nodes (A). A compressive load of 55N is applied to the tibia through the left pin while the other pin is fixed (B).

顕微鏡にて観察した。このCMR像と蛍光顕微鏡による画像より脛骨の円孔部の横断面における骨形成を観察した。

V. 3次元有限要素法 (3D-FEM) 解析

家兎脛骨に荷重を与えた場合に生じるひずみを計測する方法

として、骨の表面に直接ひずみゲージを貼付する方法がある。しかしこの方法では骨の表面の一部でしか測定することができず、また骨の内部や円孔周辺などゲージを貼付できない部位のひずみは測定不可能である。今回、脛骨の荷重時の外骨膜面、

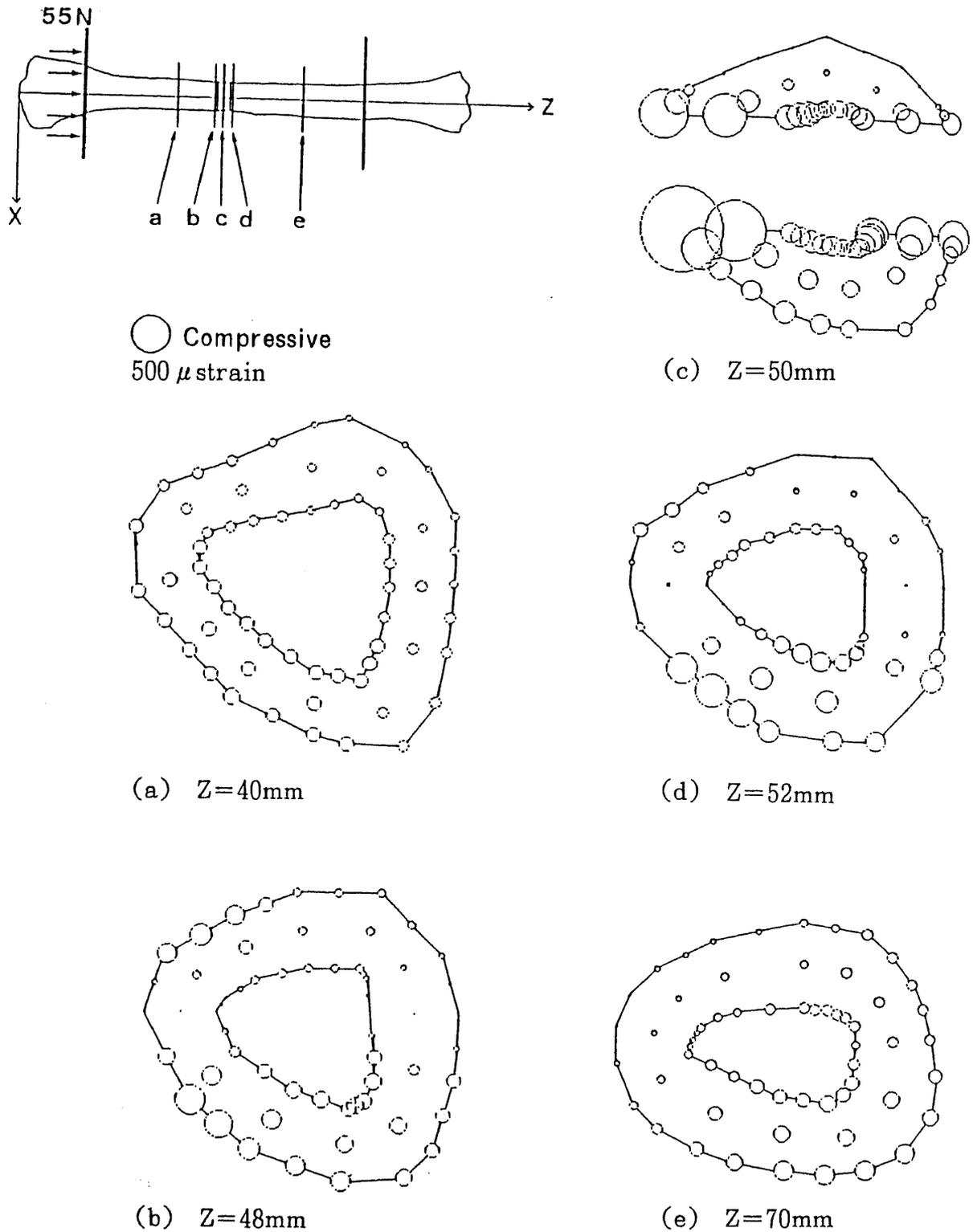


Fig. 8. The strain distributions at cross sections of the tibia at each level. The size of the circle indicates the size of the compressive strain. High compressive strains of 300 to 1000 microstrains are engendered in the peripheral area of the hole (c). This phenomenon is due to stress concentration effect. Low compressive strains, about 100 microstrains (means), are engendered in the areas away from the hole (a, e).

骨皮質内部および内骨膜面のひずみを求めるために3次元有限要素法解析¹⁰⁾を用いた。

解析モデルは家兎脛骨の computerized tomography (CT) による断面像を基に作成した。CT 像では一部に海綿骨を認めたが、皮質骨と海綿骨の弾性係数¹¹⁾の比が15:1であり海綿骨の負荷分担は皮質骨のそれに比べて小さいと考え、解析モデルは海綿骨を消去し皮質骨より構成されることとした。また解析の対象を創外固定ピン間の70mmとした。解析は応力やひずみの集中が生じると考えられる円孔周辺を主な対象とするために、円孔周辺を細かく分割した。要素分割の結果、要素数は176、接点数は1346となった(図7A)。家兎皮質骨のヤング率は15GPa、ポアソン比は0.3とした¹⁰⁾¹⁷⁾。

解析での境界条件としては一方の創外固定ピンの部分を支持固定とし、他方の創外固定ピンの部分に負荷を与えた。St. Venant の原理¹⁸⁾より荷重点から離れた部分では荷重形式による影響はなくなり、またピンと骨との接触面にはほぼ均一な荷重を与えられているものと考え、荷重入力は線荷重として55Nを創外固定ピンの刺入部分の要素の辺に与えた。さらに圧縮荷重によるモデルの回転を防ぐために荷重点の許容変位方向をZ軸方向に限定した(図7B)。解析に使用した計算機はFACOM-M360AP(富士通、東京)である。

成 績

I. 3次元有限要素法解析結果

まずはじめに3D-FEMより得られた荷重時(55N)のひずみ分布について説明する。図8は各横断面におけるMisesの相当ひずみ分布を示す。これらの図では各接点におけるひずみを円の大きさで表している。円孔より離れた部位(図8a, e)ではひずみ分布はほぼ一様で、各断面における平均ひずみは約100 μ strainであった(表1)。円孔近傍(図8b, d)ではひずみ集中の傾向を示し、円孔部(図8c)では断面積の減少によりさらにひずみが集中しているのがわかる。特に円孔辺縁部でのひずみ集中が著しく、円孔辺縁の接線方向と荷重軸が平行な部位では最小でも300 μ strain、最大1000 μ strainのひずみを生じた。

次に円孔部矢状面における円孔辺縁の接線方向ひずみ分布を図9に示す。同様にひずみの大きさを円で表し、白丸は圧縮ひずみを黒丸は引張ひずみを示す。これらの図より円孔辺縁の荷重軸に平行な部位では大きな圧縮ひずみが生じており、また垂直な部位では引張ひずみが生じているのがわかる。圧縮ひずみの最大値は800 μ strain(相当ひずみでは1000 μ strain)で引張ひずみの最大値は300 μ strainであった。すなわち円孔辺縁には

応力、ひずみ集中により0~800 μ strainの圧縮ひずみと、0~300 μ strainの引張ひずみを生じた。

II. 円孔部矢状面における骨形成

2週目の所見: 刺激2週群(E2)で骨軸(荷重軸)に平行な円孔辺縁部に豊富な骨芽細胞と幼若な骨梁からなる未熟骨の形成を認めた。対照2週群(C2)では骨形成を認めなかった(図10)。

4週目の所見: 刺激4週群(E4)では刺激2週群(E2)にみられた未熟骨は石灰化を増し、円孔の中心部に向かって成熟し

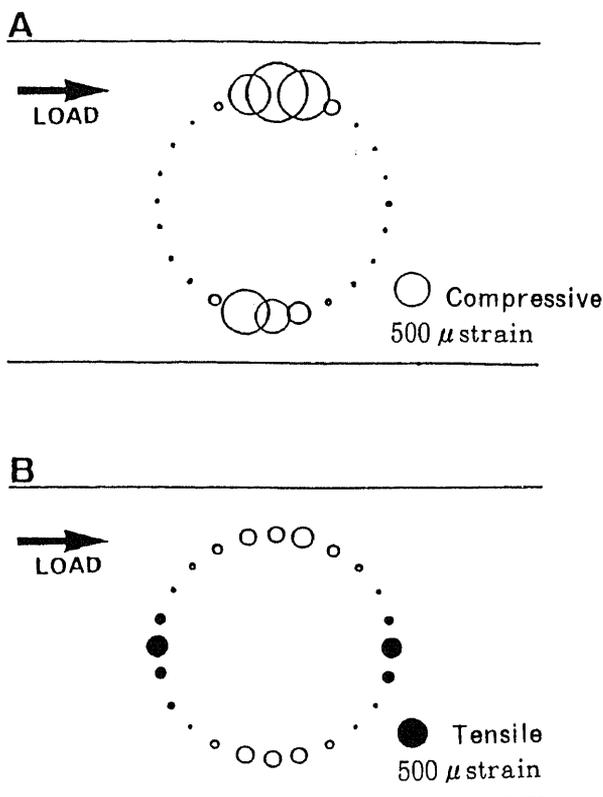


Fig. 9. The strain distributions at the hole in the lateral cortex (A: outer surface, B: inner surface). Open circles indicate compressive strain and closed circles indicate tensile strain. The size of the circle indicates the size of the strain. The compressive strains of 300 to 800 microstrains are engendered in the peripheral area of the hole parallel to the loading axis of the tibia, and the tensile strains of 300 microstrains are engendered in the peripheral area of the hole perpendicular to the loading axis.

Table 1. The mean strains at cross sections

Z (mm)	15	30	40	45	47	48	49	50
Mean strain (μ strain)	80	95	103	102	91	97	146	184
Z (mm)	51	52	53	55	60	70	85	
Mean strain (μ strain)	150	97	95	96	99	98	120	

Z: distance from the proximal end of the tibia. Center of the hole is located at Z=50mm. When compressive axial load of 55 N is applied to rabbit tibia, high mean compressive strains are engendered at the periphery of the hole (Z=49, 50, 51). About 100 microstrains are engendered away from the hole.

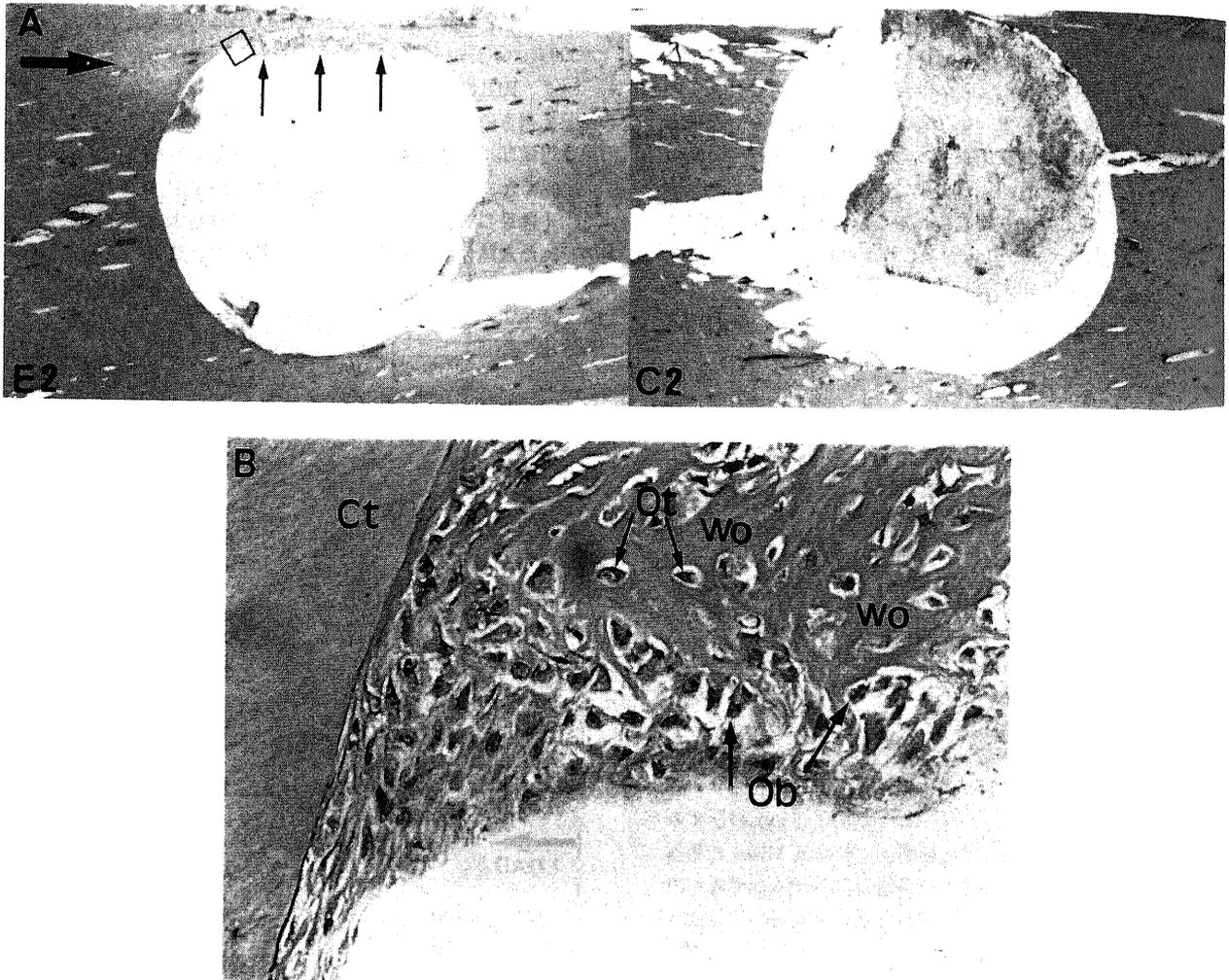


Fig.10. Photographs of the sections perpendicular to the axis of the hole at two weeks after operation. A (H. E. stain, $\times 2.5$): left; experimental group (group E), right; control group (group C). Large arrow indicates loading direction. B (H. E. stain, $\times 50$): close-up view of the square area of the photograph (A). Ct; cortex, Ob; osteoblast, Ot; osteocyte, Wo; woven bone. Woven bone (small arrows) had been formed around the hole only at the experimental group (E2), while no bone formation was observed in the control group (C2). The tissue in the center of the hole is granulation.

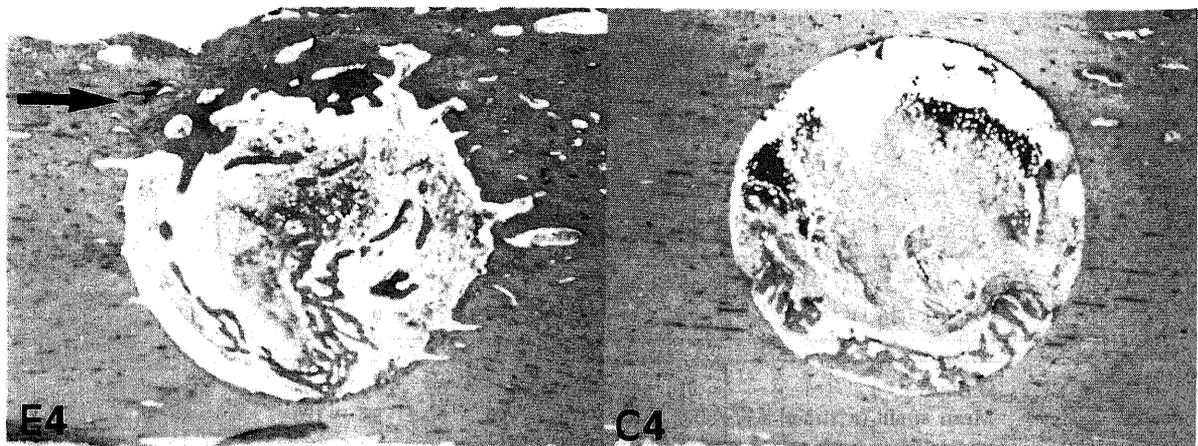


Fig.11. Photographs (H. E. stain, $\times 2.5$) of the sections perpendicular to the axis of the hole at four weeks after operation. Left; experimental group; right; control group. In E4 there were additional bone formation and trabeculation at the periphery of the hole, especially in the area parallel to the loading axis. In C4, there was only a slight amount of woven bone formed at the periphery of the hole, but its location was not consistent.

た骨梁の形成を認めた。骨軸に垂直な円孔辺縁部にも一部に骨梁の形成を認めたが、骨軸に平行な円孔辺縁部の骨梁形成のほうが量、質ともに進行していた。対照4週群(C4)では円孔辺縁部に未熟骨の形成を認めたが、その発生部位は一定ではなかった(図11)。

6週目の所見：刺激6週群(E6)では円孔を埋めるように骨

形成はさらに進行し、特に骨軸に平行な円孔辺縁部ではこれが一層活発で、円孔辺縁より中心に向かって層状骨に再構築されており、一部では本来の皮質骨の様相を呈した。対照6週群(C6)では円孔辺縁の骨梁形成と、一部で骨吸収の強い部分がみられ、E6と比較すると骨形成量は少なく質的にも未熟であった(図12)。

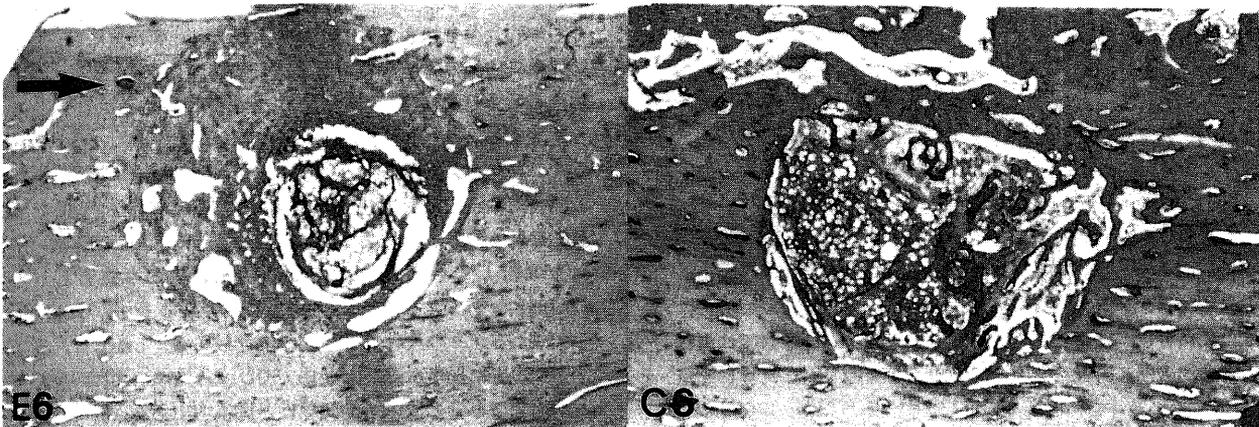


Fig.12. Photographs (H. E. stain, $\times 2.5$) of the sections perpendicular to the axis of the hole at six weeks after operation. Left; experimental group, right; control group. In E6, the hole was filled with newly formed bone tissue and more mature lamellar bone had been formed at the area parallel to the loading axis. In C6, although new bone had been formed around the periphery of the hole with trabeculation, it was much less in amount and not so mature compared with that in E6.

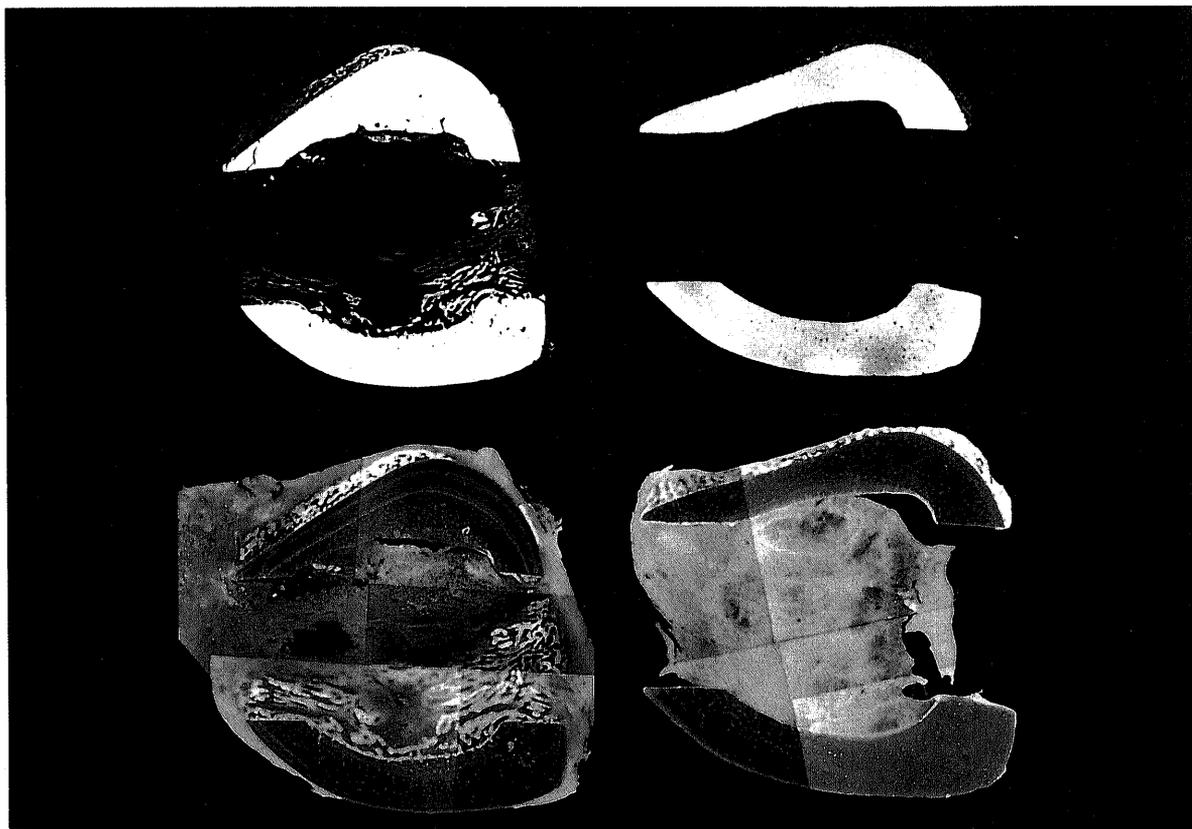


Fig.13. CMR (upper, $\times 2$) and fluorescent photographs (lower, $\times 2$) of cross section at the level of the hole at two weeks after operation. Left; experimental group (group E), right; control group (group C). Woven bone had been formed at the periphery of the hole in group E. Endosteal and periosteal bone formation were also observed. No bone formation was observed in group C. Newly formed bone was fluorescent with Tc.

Ⅲ. 円孔部横断面における骨形成

2週目の所見：E 2 で円孔辺縁に外骨膜面から内骨膜面にかけてびまん性に未熟骨の形成を認め、円孔部以外の外骨膜面にも一部骨膜性仮骨形成を認めた。C 2 では円孔辺縁には骨形成はみられなかった。同一標本の蛍光顕微鏡観察では形成された新生骨に一致してテトラサイクリンによる蛍光を認めた。両群とも皮質骨内の第2次骨単位には蛍光を認めなかった(図13)。

4週目の所見：C 4 でも円孔辺縁に骨形成がみられたが、矢状面における所見と同様にE 4のほうが骨形成および骨成熟は進行していた。すなわちC 4において新生骨は未熟骨が主であり未熟骨同士の連続性が乏しいのに対し、E 4では連続した骨梁形成を認めた。蛍光顕微鏡観察では両群とも新生骨に蛍光を認めた。皮質骨内の第2次骨単位には両群とも一部にテトラサイクリンによるリングを認めた(図14)。

6週目の所見：E 6では骨形成はさらに進行し、一部骨梁が疎な部位もあるが円孔部は殆ど骨梁で埋められた。C 6では円孔辺縁に骨梁形成がみられ、C 4より骨形成は進行しているもののE 6のように円孔部全体を埋めつくすものではなかった。また皮質骨内には骨粗鬆化を認めた。蛍光顕微鏡観察では両群とも骨梁表面に蛍光を認めた。また皮質骨内の第2次骨単位にはC 6で皮質骨全体に多くのリングがみられたが、E 6では一部のみであった(図15)。

考 察

骨形成に力学的刺激が関与していることは現在明らかである

が¹¹⁾、力学的刺激の量と骨の反応の関係についてはいまだ不明であり、これらの量的関係を解明することは骨折の治療や人工関節の設計においてきわめて重要である。骨癒合を得るためには強力な固定が必要とされてきたが、近年では軸方向可動式創外固定器(dynamic axial fixator⁸⁾, DAF)や横止めネジ式髓内釘における軸方向運動(dynamization¹⁰⁾のごとく、骨折面での間欠的な荷重は骨癒合を促進させることが指摘されている。

荷重と骨形成あるいは再構築についての実験報告^{23)20)~24)}は比較的多い。中林ら⁹⁾はニワトリに強制走行や片脚歩行など種々の力学的負荷を加えて骨の動態を観察し、片脚荷重において骨幹部中央内側の骨単位性骨形成はやや増加し、また運動量が増加すると石灰化速度は低下すると報告している。Churchesら²⁰⁾はヒツジの右手骨にステンレスのピンを刺入し、モーターとクランクを駆動源とした油圧ポンプにより0.4Hzの正弦波状の間欠的軸圧荷重を1日2時間で4週間与えた結果、軸圧荷重が8.8MPaのとき骨幹部中央部の皮質骨の横断面積が17%増加したと報告している。また間欠的軸圧荷重の与え方としてChamayら²¹⁾によるイヌの橈骨骨切り後の歩行や、Goodshipら²²⁾によるブタの尺骨骨切り後の歩行がある。しかしこれらはすべて実際に局所に発生した応力やひずみについては不明で、力学的刺激と骨形成の量的関係は一切不明である。

本実験の目的は、力学的刺激(ひずみ量)と骨形成の量的関係を明らかにすることである。力学的刺激にはその種類(圧縮, 引張, 剪断), 大きさ, 周期, 時間, 波形の種々の要素があるが、剪断あるいは捻りによって骨折部に偽関節を作成する実験

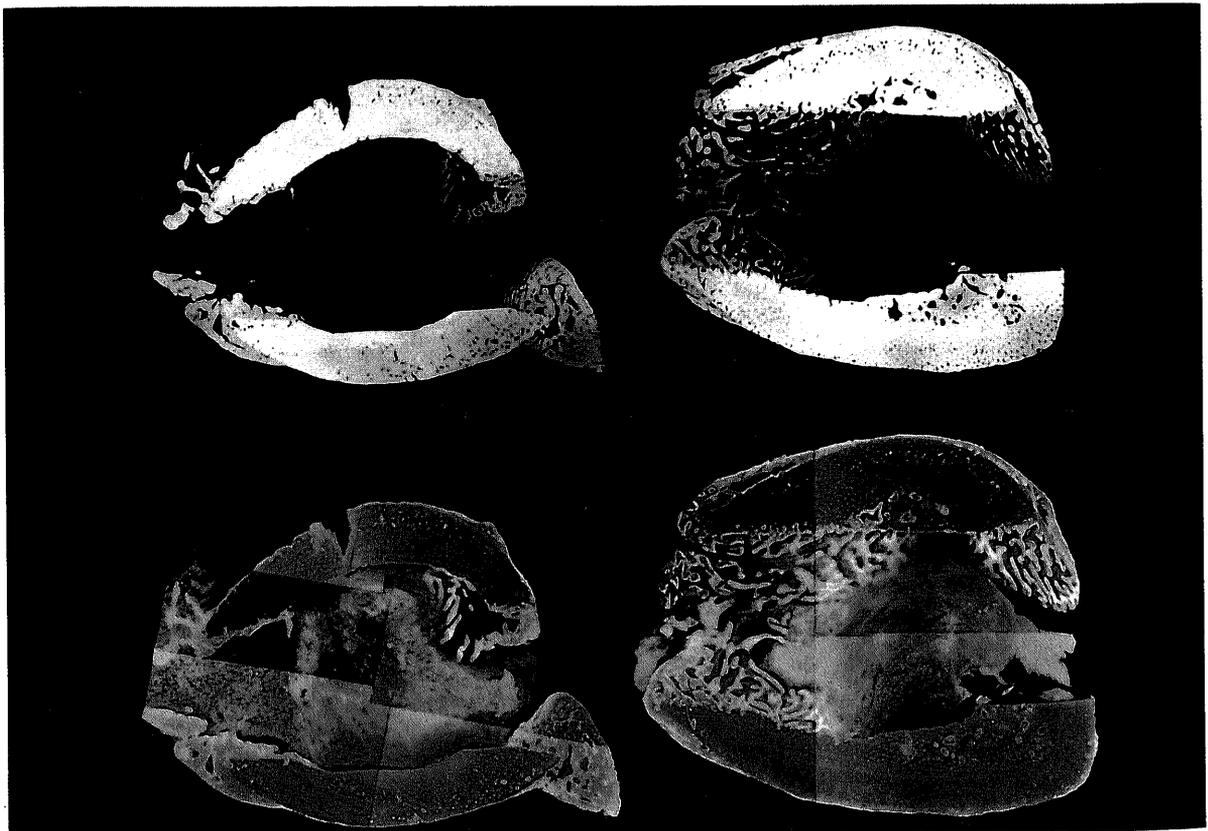


Fig.14. CMR (upper, $\times 2$) and fluorescent photographs (lower, $\times 2$) of cross section at the level of the hole at four weeks after operation. There was additional bone formation at the periphery of the hole in group E as well as in group C. However the newly formed bone in group E was more mature with trabeculation.

報告²⁰⁾もみられるように、剪断については殆どの報告が骨形成に関しては否定的である。そこで圧縮と引張ひずみを実験対象とした。荷重の大きさにおいて重要な点はそれが生理的範囲内にあるということである。Panjabi ら²⁴⁾は家兎の脛骨に 40N の間欠的圧縮荷重を与え、Churches ら²⁰⁾はヒツジの中手骨に 1000N と大きな荷重を与えているが、これらはそれぞれ体重の 1.3 倍および 2.5 倍であり、ヒトでは正常歩行時に体重の 4 倍²⁷⁾の荷重が脛骨にかかることより生理的範囲内と思われる。本実験においては家兎の体重の約 2 倍である 55N の間欠的圧縮荷重を与えた。周期と時間については諸家の実験方法^{220)~24)}では、周期は 0.5Hz または 1.0Hz で時間は 1 日 1~2 時間とされることが多い。これはヒトの歩行速度よりやや遅いが生理的範囲内であると思われる。従って本実験では刺激周期と時間を 0.5Hz で 1 日 1 時間とした。荷重の波形について Churches ら²⁰⁾は正弦波を、Rubin ら³⁾は矩形波を採用している。正弦波では最大荷重は瞬間的であり、ひずみと骨の反応について検討する場合は矩形波のように最大荷重がプラトーの状態に骨に与えられるほうがより定量的であると思われる。よって本実験においてはモーターとカムを利用して矩形波の荷重を与えた。

ひずみの大きさと骨の反応の量的関係についての報告は少ない。Rubin ら³⁾は鳥類の尺骨に最大 4000 μ strain の間欠的軸圧荷重を与え、1000 μ strain 以下では尺骨の横断面積は減少(海綿骨化)し、それ以上で増加するとしている。一方 Lanyon ら²⁸⁾はヒトの脛骨に直接ひずみゲージを貼付し、歩行時 (1.4m/s) に

最大 400 μ strain、走行時 (2.2m/s) に最大 800 μ strain の圧縮ひずみを測定している。つまりヒトでは荷物を担いで走るか、またはより速く走らない限り脛骨に 1000 μ strain を発生しえない。Woo ら²⁹⁾はヒトに走行負荷(最大心拍数の 65~80% で走行)を与えた場合に、下肢長管骨の骨粗鬆化を生じないだけでなく骨肥厚を生じたと報告している。すなわち、鳥類と哺乳類との違いはあるであろうが、ヒトを含めて哺乳類の場合は 1000 μ strain 以下でもある程度のひずみが長管骨に加われれば海綿骨化あるいは骨粗鬆化を生じず、また骨形成が刺激される可能性を示している。従って、本実験では家兎の体重の約 2 倍である 55N という生理的範囲で家兎脛骨に 0.5Hz の矩形波の間欠的荷重を与え、さらに幅広いひずみを生じせしめるために脛骨骨幹部に 3mm の円孔を作成し、その応力集中を利用して生理的荷重下に円孔辺縁に 0~800 μ strain の圧縮ひずみと、0~300 μ strain の引張ひずみを生じせしめ、この範囲におけるひずみと骨の反応について検討した。

ひずみを直接計測することは硬弾性物質であればひずみゲージを用いることにより比較的容易であり、実測上円孔より十分離れた部位では約 100 μ strain の圧縮ひずみを生じた。しかしひずみゲージによる測定では、ひずみゲージを貼付できない部位のひずみを知ることは不可能である。だが有限要素法を用いることによりひずみゲージを貼付できない部位のひずみを推定することは可能である。本実験においても 3D-FEM を使用して、固定ピン間の外骨膜面と内骨膜面およびこれらの中央の皮

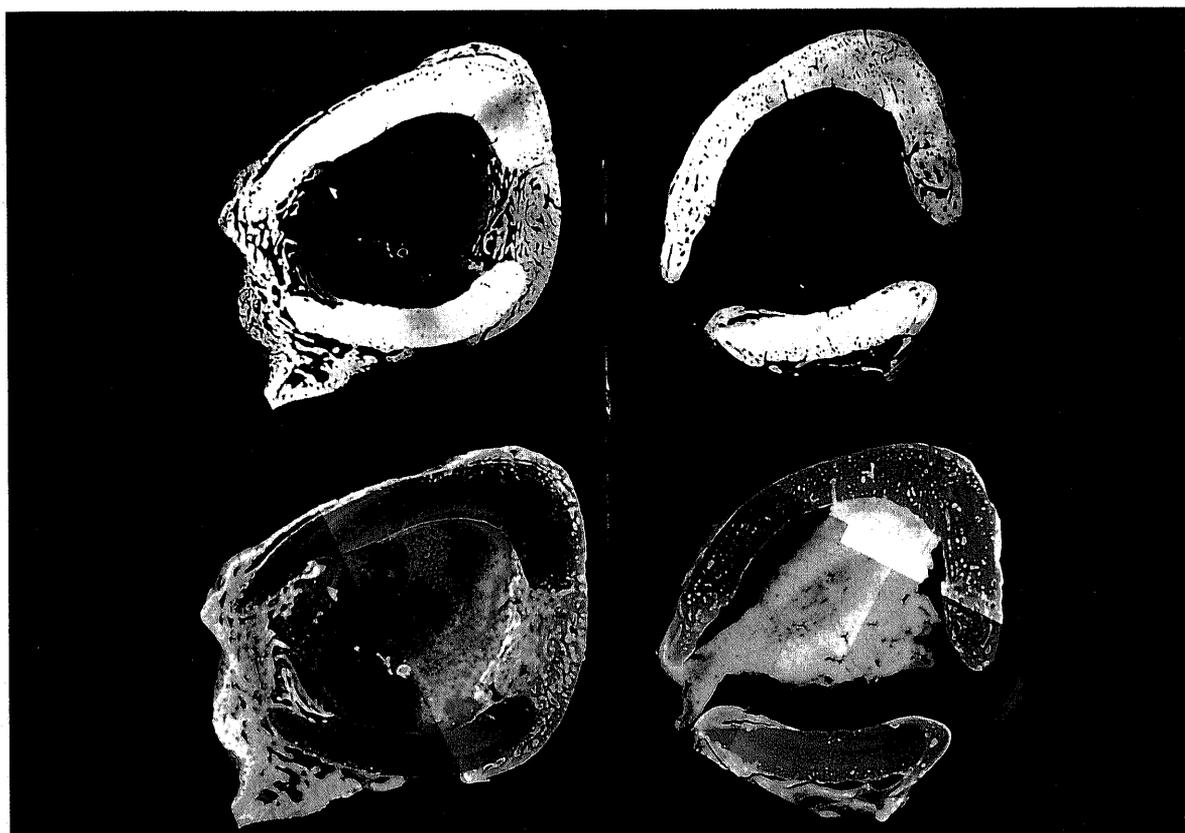


Fig.15. CMR (upper, $\times 2$) and fluorescent photographs (lower, $\times 2$) of cross section at the level of the hole at six weeks after operation. The hole was filled with newly formed bone in group E. While new bone had been formed around the periphery of the hole in group C, it was much less than that in group E. Interestingly, in group C, fluorescent photograph showed many rings labelled with Tc in the cortex, and CMR showed osteoporosis.

質骨内部のひずみ量を求めた。3D-FEM では円孔より離れた皮質骨表面に約 $100 \mu\text{strain}$ のひずみが生じ、ひずみゲージによる実測値と一致した。Lanyon ら³⁰⁾ は 3kg の家兎の脛骨に直接ひずみゲージを貼付し生体で 55N の圧縮荷重を与えたところ $87 \mu\text{strain}$ の圧縮ひずみを計測しており、本実験における摘出家兎脛骨の荷重試験結果および 3D-FEM の解析結果とはほぼ一致し、力学的刺激装置と 3D-FEM の妥当性は得られていると考える。

これらの 3D-FEM と骨形成の組織像を比較検討すると、E 群で 2 週目で最初に骨形成がみられた部位は荷重方向に平行な円孔辺縁部で、その部のひずみは $300 \sim 800 \mu\text{strain}$ の圧縮ひずみであった。 $0 \sim 300 \mu\text{strain}$ の圧縮ひずみの部位と $0 \sim 300 \mu\text{strain}$ の引張ひずみを発生した部位および C 群には骨形成はみられなかった (表 2)。このことから 0.5Hz の $300 \sim 800$

Table 2. Strains and bone formation

	No.	Section	Area I	Area II	Area III
	Group E2	1	P	1/ 2*	0/ 4
2		P	1/ 2	1/ 4	0/ 2
3		P	2/ 2	1/ 4	0/ 2
4		C	3/ 4		
5		C	4/ 4		
Total	n=5		11/14**	2/12 ^{NS}	0/ 6 ^{NS}

	No.	Section	Area I	Area II	Area III
	Group C2	1	P	0/ 2	0/ 4
2		P	0/ 2	0/ 4	0/ 2
3		P	0/ 2	0/ 4	0/ 2
4		C	0/ 4		
5		C	0/ 4		
Total	n=5		0/14	0/12	0/ 6

Area I, the area with compressive strain of 300 to 800 microstrains. Area II, the area with compressive strain of 0 to 300 microstrains. Area III, the area with tensile strain of 0 to 300 microstrains. P, perpendicular section to the axis of the hole; C, cross section of the tibia at the level of the hole; NS, statistically insignificant.

* number of the area with bone formation/number of the area where each strain was generated at the hole

** $P < 0.001$ (X^2 test, Yates' correction)

μstrain の圧縮ひずみによる刺激を 1 日 1 時間長管骨の皮質骨に与えることにより骨形成は促進され、 $0 \sim 300 \mu\text{strain}$ の圧縮ひずみと $0 \sim 300 \mu\text{strain}$ の引張ひずみは特に骨形成を促進しないといえる。4 週目では C 群の円孔辺縁にも骨形成がみられたが、これは力学的刺激とは無関係なあるいは独立した骨損傷部における自然修復過程の結果であると思われる。E 群ではすでに成熟した骨梁形成が認められた。6 週目も同様で、このことより力学的刺激は骨形成の促進のみならず成熟も促進するといえる。ただ今回の 3D-FEM は骨に円孔をあけた直後の状態についての解析であり、そのためひずみ量と骨形成の量的関係については 2 週目のものが正確であるが、荷重を分担しうる骨梁が形成され円孔の形態が変化した状態においては初期形状での解析値をそのまま使用することはできない。

本実験では脛骨の横断面における円孔周辺の骨形成部位とその程度を知る目的でテトラサイクリンによるラベリングを行った。テトラサイクリンはハイドロキシアパタイトと結合して骨や歯の石灰化の行われている部位に沈着し、蛍光顕微鏡下に黄色の蛍光としてみられる。従って未熟骨や石灰化の行われている骨梁表面、あるいは石灰化の行われている第 1 次および第 2 次骨単位においてリングとしてみられる。第 2 次骨単位におけるリングは、太田³¹⁾ の報告にあるように骨吸収が先行しその後骨形成された部位 (テトラサイクリンが投与された期間中に限る) を意味し、リング数が多くまたリング幅が広いことは骨の回転 (bone turnover) が活性化されていることを意味する。2 週目では両群とも骨単位のリングはみられず、E 群で未熟骨に一致して蛍光がみられた。つまり未熟骨が形成されている部位は別として、皮質骨内では両群とも骨の回転がまだ活性化されていないことを示している。4 週目では皮質骨および骨梁内に部分的にリングを認めたが両群の差はなかった。6 週目では興味深いことに C 群で皮質骨および骨梁内に多数のリングがみられ、E 群では 4 週と同様に皮質骨の一部にみられただけであり、対照群のほうが骨の回転が活性化されていることを示唆している。また CMR で骨粗鬆化が認められることより骨吸収がおこっていると考えられる。Chai ら³²⁾ は家兎の下肢をギブス固定してテトラサイクリンによる二重ラベリングを行っており、運動抑制 (immobilization) の結果 40 日以降はリングが対照群に比べ数倍多かったと報告し、つまり運動抑制により骨の回転が活性化されたためであると述べている。これは本実験における 6 週目の所見と一致しており、ギブス固定により骨吸収が刺激

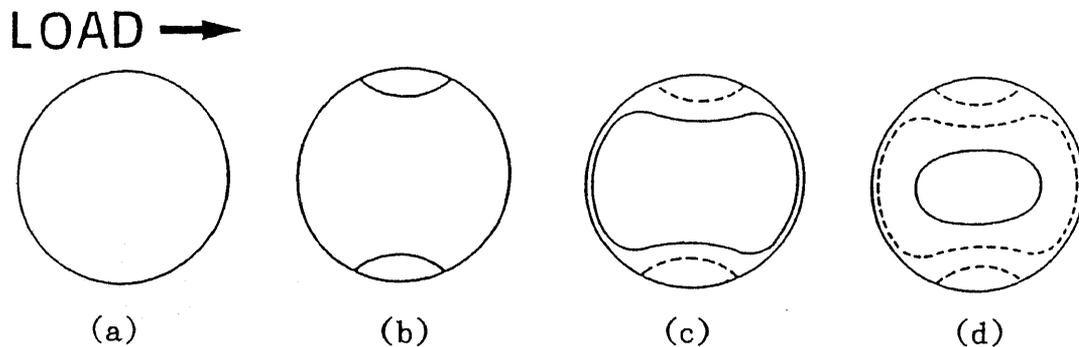


Fig.16. Schema of repair process of a hole which is deduced from the histological results and 3D-FEM. First, new bone is formed at the area with high compressive strain (b). Compressive strain in the area adjacent to the newly formed bone then becomes larger due to the stress concentration effect. This stimulates bone formation in this area (c). This process repeats and finally the newly formed bone fills the hole (d).

されその後に骨形成を生じたためであると思われる。一般に運動抑制の結果骨は海綿骨化(骨粗鬆化)を生じるが、決して骨形成されないのではなく、骨形成と骨吸収のバランスが骨吸収に傾いたためである。太田は骨粗鬆症の臨症例で類骨層石灰化速度³¹⁾は正常例に比べ遅かったと報告しているが、骨粗鬆症患者は本来骨の回転は低く運動抑制による骨粗鬆化とは様態が異なると思われる。Chai ら³²⁾や中林ら³⁾が報告しているように、正常な骨の回転を営んでいる骨に運動抑制を行った場合は骨の回転が活性化され、骨形成と骨吸収のバランスが骨吸収に傾きつつも骨形成は増加し類骨層石灰化速度は大きくなったのであろうと推察される。E群ではこれが生じていないこと、そして3D-FEM では皮質骨のひずみが100~300 μ strainの圧縮ひずみであったことより、この大きさの圧縮ひずみにより骨吸収が抑制されることが推定される。また力学的刺激こそがこの運動抑制による骨粗鬆化を防止するものと考えられる。

次に円孔欠損部における骨の修復過程を以上の実験結果および3D-FEMをもとに考察する。まず初めに、大きな圧縮ひずみが生じる荷重方向に平行な円孔辺縁部より骨形成は始まる(図16b)。そしてこの骨形成によって最大ひずみを生じる部分が新生骨の辺縁に移動し、再び最大ひずみの生じる部分に骨が形成され(図16c)、この繰り返しにより円孔欠損部は骨により埋められていくものと推察される(図16b)。

さて、力学的刺激が骨の形成や吸収に関与していることは明らかであるが、そのメカニズムについては解明されていない。一般には以下のごとく考えられている。力学的刺激とはすなわ

ち荷重であり、荷重は骨の各部位において応力を生じる。骨などの固体に応力が加わればひずみを生じ、静止流体に対しては圧の変化を生じる。ここで骨に荷重を与えた場合、骨芽細胞を賦活化する細胞がひずみまたは圧力のいずれを感知するかは議論点⁴³³⁾のひとつである。Bagi ら³⁴⁾は、胎生期マウスの長管骨骨幹部あるいは骨端部の軟骨細胞を密閉された容器内で培養し、容器内の圧力を間欠的に変化させることにより培養細胞に力学的刺激を与えている。そしてこの力学的刺激により培養細胞の硫酸塩の取り込みは増加し、軟骨基質の石灰化が刺激されたと報告している。しかしながら、実際には骨髓腔やハバース管(Haversian canal)あるいは骨細管内などの非静止流体中の細胞に皮質骨や海綿骨から応力が伝播するとは考えにくい。骨に生じたひずみのある細胞が直接感知するほうが自然と思われる。Peard ら³⁵⁾は、鳥類の尺骨に間欠的荷重を与えた場合骨細胞中のRNAが対照の約6倍に達したと報告している。また同様の実験系において、骨細胞中のglucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PD)の活性がひずみの大きさに比例して高かったと報告している。G6PDは核酸の代謝に関与しており、G6PDの活性上昇はRNAの増加と同様に蛋白質の産生を意味する。つまりメカニズムとして、間欠的荷重を与え骨にひずみが生じたとき、細胞分裂や骨形成を生じ得ない骨細胞がこれに反応して何らかの蛋白質を産生し、この蛋白質が骨芽細胞あるいは骨原性細胞(osteoprogenitor cell)に対して骨形成を直接的または間接的に刺激促進していると彼らは考えている。確かに骨細胞は骨小管で隣接細胞と互いに細胞突起で接触しており、骨に

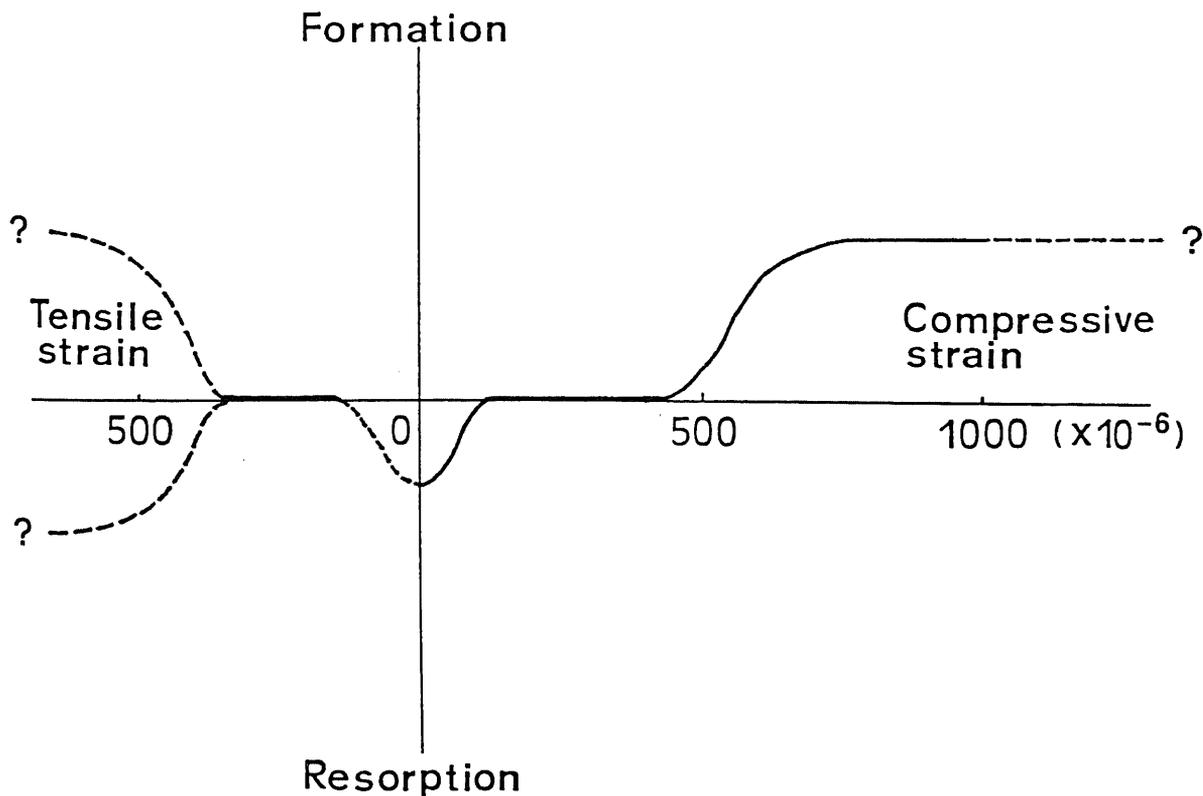


Fig.17. Relationship between strain and bone response. From the results of this study it is deduced that intermittent compressive strain of 300 to 800 microstrains stimulates bone formation, that tensile strain of less than 300 microstrains does not stimulate bone formation, and that compressive strain of 100 to 300 microstrains prevents bone resorption. The response of bone to compressive strain larger than 1000 microstrains or tensile strain larger than 300 microstrains has not been clarified.

ひずみが生じた場合にこれを感知する可能性が考えられる。

多くの著者³¹⁾³²⁾³⁴⁾が述べているように骨形成に関連する因子として力学的刺激のみならず電気的因子、ホルモン、あるいは骨折や骨に生じた損傷 (damage) などがあげられる。その中でひずみは骨形成または骨吸収に対して容量依存性の絶対的なものではなく、Churches ら²⁰⁾が述べているようにトリガー (trigger) 的なものであろうと推測される。つまり刺激としてのひずみがある一定範囲内であれば骨形成と骨吸収の平衡状態は維持され、この範囲を越えるひずみが骨に与えられた場合は骨形成に傾き、またこの範囲より低いひずみでは骨吸収を生じるものと考えられる。本実験結果より骨形成と骨吸収の平衡状態から骨形成に移行するひずみの値は、Rubin ら³⁾が報告している $1000 \mu\text{strain}$ より低い位置にあることが示唆された。すなわち図17に示すように、その値は $300 \sim 800 \mu\text{strain}$ の圧縮ひずみの間にあり、またE群の6週目で骨粗鬆化を生じなかったことより、 $100 \sim 300 \mu\text{strain}$ の圧縮ひずみは骨形成と骨吸収の平衡状態を保ち、それ以下のひずみでは骨吸収を生じると推察された。図に示すように引張ひずみが大きくなった場合にさらに骨吸収が促進されるのか、あるいは再度骨形成に導かれるのか、また $1000 \mu\text{strain}$ を越える圧縮ひずみでどう変化するかは不明かつ興味のあるところであり、今後の研究課題である。

結 論

1. 力学的刺激と骨形成の量的関係を知るために、家兎脛骨に皮質骨欠損部を作成し力学的刺激を加え、それに対するこの部位の骨形成と3次元有限要素法によるひずみ分布を対比させて検討した。

2. 家兎脛骨に直径3mmの円孔を作成して軸方向に55Nの圧縮荷重を与えた場合、円孔辺縁には応力集中の結果 $0 \sim 800 \mu\text{strain}$ の圧縮ひずみと、 $0 \sim 300 \mu\text{strain}$ の引張ひずみを生じた。円孔より離れた部位には $100 \mu\text{strain}$ の圧縮ひずみを生じた。

3. この圧縮荷重を0.5Hzの矩形波で1日1時間間欠的に与えた場合、刺激後2週間で $300 \sim 800 \mu\text{strain}$ の圧縮ひずみを生じた部位に早期に骨形成を認めた。また $0 \sim 300 \mu\text{strain}$ の圧縮ひずみと $0 \sim 300 \mu\text{strain}$ の引張ひずみを生じた部位には骨形成を認めなかった。

4. 間欠的軸圧荷重を与えなくても4~6週間後には骨形成が生じたが、刺激群の方が対照群より成熟した骨形成がみられた。

5. 対照6週群では皮質骨内に骨粗鬆化(骨吸収)を認めたが刺激群ではみられなかった。

6. 以上より、骨形成と骨吸収の平衡状態より骨形成に移行するひずみ量は $300 \sim 800 \mu\text{strain}$ の圧縮ひずみの間にあり、また $100 \sim 300 \mu\text{strain}$ の圧縮ひずみは骨吸収を抑制すると言える。

謝 辞

稿を終えるにあたり、研究の御指導と御校閲を賜りました恩師富田勝郎教授に衷心より深甚の謝意を表します。また本研究に御指導、御助言をいただいた沢口毅博士、金沢大学工学部システム工学科尾田十八教授、御助力をいただいた赤川節二博士、金沢大学第二病理学斎藤勝彦講師、金沢大学工学部システム工学科西村哲郎氏、金沢大学医学部、田畑繁之文部技官に衷心より深謝の意を表します。

本論文の要旨は第5回日本整形外科学会基礎学術集会、第17回整形外

科バイオメカニクス研究会、および第1回日・米・加整形外科基礎学会合同会議において発表した。

文 献

- 1) Frankel, V. H. & Nordin, M.: Biomechanics of whole bones and bone tissue, *In* V. H. Frankel & M. Nordin (eds.), Basic Biomechanics of the Skeletal System, 1st ed., p15-60, Lea & Febiger, Philadelphia, 1980.
- 2) 中林幹治, 司馬良一: 力の影響による骨の再構築に関する実験的研究. 日整会誌, 61, 1429-1436 (1987).
- 3) Rubin, C. T. & Lanyon, L. E.: Osteoregulatory nature of mechanical stimuli: function as a determinant for adaptive remodeling in bone. *J. Orthop. Res.*, 5, 300-310 (1987).
- 4) Lanyon, L. E.: Strain-related bone modeling and remodeling. *Top. Geriatr. Rehabil.*, 4, 13-24 (1989).
- 5) Jensen, J. S., Hansen, F. W. & Johansen, J.: Tibial shaft fractures. A comparison of conservative treatment and internal fixation with conventional plates or AO compression plates. *Acta Orthop. Scand.*, 48, 204-212 (1977).
- 6) Lewallen, D. G., Chao, E. Y. S., Kasman, R. A. & Kelly, P. J.: Comparison of the effects of compression plates and external fixators on early bone-healing. *J. Bone Joint Surg.*, 66-A, 1084-1091 (1984).
- 7) Kenwright, J. & Goodship, A. E.: Controlled mechanical stimulation in the treatment of tibial fractures. *Clin. Orthop.*, 241, 37-47 (1989).
- 8) Bastiani, G., Aldegheri, R. & Brivio, L. R.: The treatment of fractures with a dynamic axial fixator. *J. Bone Joint Surg.*, 66-B, 538-545 (1984).
- 9) Wolf, Jr. J. W., White, A. A. III, Panjabi, M. M. & Southwick, W. O.: Comparison of cyclic loading versus constant compression in the treatment of long-bone fractures in rabbits. *J. Bone Joint Surg.*, 63-A, 805-810 (1981).
- 10) Huiskes, R.: Design, fixation, and stress analysis of permanent orthopedic implants: The hip joint. *In* P. Ducheyne & G. W. Hastings (eds.), Functional Behavior of Orthopedic Biomaterials, 1st ed., 2, p121-162, CRC Press, Florida, 1984.
- 11) 酒井康一郎, 沢口毅, 米沢幸平, 富田勝郎, 尾田十八, 酒井忍: 横止め穴によるAO髓内釘折損例の検討. 整形外科, 40, 1176-1180 (1989).
- 12) 渡辺正美, 佐々木佳郎, Jee, W. S. S.: 非脱灰骨組織標本の作成方法ならびに整形外科的骨疾患に対する応用. 臨整外, 17, 579-584 (1982).
- 13) Huiskes, R., Weinans, H. & Dalstra, M.: Adaptive bone remodeling and biomechanical design considerations for noncemented total hip arthroplasty. *Orthopedics*, 12, 1255-1267 (1989).
- 14) Hart, R. T., Davy, D. T. & Heiple, K. G.: A computational method for stress analysis of adaptive elastic materials with a view toward applications in strain-induced bone remodeling. *J. Biomech. Eng.*, 106, 342-350 (1984).
- 15) 立石哲也, 宮永豊: 生体組織の物理・機械的特性. バイ

オメカニクス資料集成(立石哲也, 宮永 豊編), 第1版, 93-157頁, 朝日サイエンス社, 大阪, 1978.

16) Currey, J. D.: The mechanical properties of bone. *Clin. Orthop.*, **73**, 210-231 (1970).

17) Reilly, D. T. & Burstein, A. H.: The mechanical properties of cortical bone. *J. Bone Joint Surg.*, **56-A**, 1001-1022 (1974).

18) Fung, Y. C.: *A First Course In Continuum Mechanics*, 2nd ed., Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1977. 大橋義夫, 村上澄男, 神谷紀生(訳): Saint-Venantの原理. 連続体の力学入門, 第2版, 307-308頁, 培風館, 東京, 1980.

19) Kempf, I., Grosse, A. & Lafforgue, D.: L'apport du verrouillage dans l'enclouage centro-medullaire des os longs. *Rev. Chir. Orthop.*, **64**, 635-651 (1978).

20) Churches, A. E., Howlett, C. R. & Waldron, K. J.: The response of living bone to controlled time-varying loading: method and preliminary results. *J. Biomech.*, **12**, 35-45 (1979).

21) O'Connor, J. A., Lanyon, L. E. & MacFie, H.: The influence of strain rate on adaptive bone remodeling. *J. Biomech.*, **15**, 767-781 (1982).

22) Chamay, A. & Tscantz, P.: Mechanical influences in bone remodeling. Experimental research on Wolff's law. *J. Biomech.*, **5**, 173-180 (1972).

23) Hert, J., Pribylova, E. & Liskova, M.: Reaction of bone to mechanical stimuli. Part 3: microstructure of compact bone of rabbit tibia after intermittent loading. *Acta Anat.*, **82**, 218-230 (1972).

24) Panjabi, M. M., White, A. A. III & Wolf, JR. J. W.: A biomechanical comparison of the effects of constant and cyclic compression on fracture healing in rabbit long bones. *Acta Orthop. Scand.*, **50**, 653-661 (1979).

25) Goodship, A. E., Lanyon, L. E. & McFie, H.: Functional adaptation of bone to increased stress. *J. Bone Joint Surg.*, **61-A**, 539-546 (1979).

26) 藤江裕道, 馬淵清資, 糸満盛憲, 山本 真, 笹田 直, 中山 徹: 揺動円弧運動により構成した偽関節の摩擦挙動. 整形

外科バイオメカニクス, **11**, 191-194 (1989).

27) Frankel, V. H. & Nordin, M.: Biomechanics of the ankle, *In* V. H. Frankel & M. Nordin (eds.), *Basic Biomechanics of the Skeletal System*, 1st ed., p179-191, Lea & Febiger, Philadelphia, 1980.

28) Lanyon, L. E., Hampson, W. G. J., Goodship, A. E. & Shah, J. S.: Bone deformation recorded in vivo from strain gauges attached to the human tibial shaft. *Acta Orthop. Scand.*, **46**, 256-268 (1975).

29) Woo, S. L. Y., Kuei, S. C., Amiel, D., Gomez, M. A., Hayes, W. C., White, F. C. & Akeson, W. H.: The effect of prolonged physical training on the properties of long bone: a study of Wolff's law. *J. Bone Joint Surg.*, **63-A**, 780-787 (1981).

30) Lanyon, L. E., O'Connor, J. A. & Goodship, A. E.: The importance of physiological relevance in biomechanical experiments. A letter to the editor. *J. Biomech.*, **10**, 611-612 (1977).

31) 太田道夫: 第二次骨単位による骨代謝の研究. テトラサイクリン骨標識による骨形成速度の検討. *日整会誌*, **44**, 299-312 (1970).

32) Chai, B., Zhu, X. & Yang, L.: Effect of cast immobilization on bone turnover. A tetracycline double labelling investigation. *Chin. Med. J.*, **93**, 316-330 (1980).

33) Steinemann, S. G.: Bone remodeling - What are the parameters? *In* S. M. Perren & E. Schneider (eds.), *Biomechanics: Current Interdisciplinary Research*, 1st ed., p215-220, Nijhoff, Dordrecht, 1985.

34) Bagi, C. & Burger, E. H.: Mechanical stimulation by intermittent compression stimulates sulfate incorporation and matrix mineralization in fetal mouse long-bone rudiments under serum-free conditions. *Calcif. Tissue Int.*, **45**, 342-347 (1989).

35) Pead, M. J., Suswillo, R., Skerry, T. M., Vedi, S. & Lanyon, L. E.: Increased 3H uridine levels in osteocytes following a single short period of dynamic bone loading in vivo. *Calcif. Tissue Int.*, **43**, 92-97 (1988).

An Experimental Study on the Quantitative Relation between Mechanical Stimuli and Bone Formation
Koichiro Sakai, Department of Orthopedic Surgery, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen
Med Soc., **101**, 557—570 (1992)

Key words mechanical stimulus, bone formation, finite element method

Abstract

It is well known that bone responds to mechanical stimuli. Little is known, however, about the quantitative relation between the two. The purpose of this study was to evaluate the quantitative interrelation between bone formation and mechanical stimuli. A mechanical stimulator was originally developed to generate intermittent cyclic axial loading. The compressive pulse load of 55 N at 0.5 Hz was applied for one hr per day to the tibiae of thirty rabbits throughout the test period of up to six weeks. The load was applied through two pins inserted in the tibia. A 3 mm hole was drilled halfway between the two pins in order to produce a wide range of strain by utilizing the stress concentration effect. Bone formation at this hole was evaluated histologically using hematoxyline-eosin stain, contact microradiography and tetracycline labelled fluoroscopy. A three dimensional finite element method was employed to analyze the strain distributions of the tibiae. Compressive strains of about 100 microstrains were generated away from the hole, and compressive strains less than 800 microstrains and tensile strains less than 300 microstrains were generated in the peripheral area of the hole. The histology and strain distributions were compared. In conclusion, an intermittent compressive strain of 300 to 800 microstrains stimulates bone formation. A compressive strain of less than 300 microstrains and a tensile strain of less than 300 microstrains do not stimulate bone formation, while a compressive strain of 100 to 300 microstrains prevents bone resorption.