

骨形成と力学的刺激に関する実験的研究とその理論化

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/2297/9168

骨形成と力学的刺激に関する実験的研究とその理論化

金沢大学医学部整形外科科学講座 (主任: 富田勝郎教授)

青 山 和 裕

骨が力学的刺激に反応することはよく知られていることであるが、この現象の詳細については未だ不明な点が多い。骨形成と力学的刺激の定量的関係を明らかにするため家兎を用いた動物実験と3次元有限要素法を用いた解析を行った。径2mmのピン2本を70mmの間隔をあけて家兎の脛骨に刺入し、2本のピンの中点に径3mmの円形の骨欠損を作成した。家兎脛骨に2本のピンを介して1日1時間、荷重量49N、周期0.5Hzの間欠的な軸方向の圧縮あるいは引張荷重を与え、円形の骨欠損周囲に応力集中の作用により広範囲に及ぶ大きさの応力を生じさせることができた。実験開始後1週目、2週目、4週目に円形の骨欠損に生じた骨形成を組織学的に評価した。また家兎脛骨に生じた有効応力を3次元有限要素法により解析し、組織像と有効応力の分布を比較した。その結果圧縮荷重だけでなく引張荷重でも骨形成が促進されることが明らかとなった。また圧縮荷重および引張荷重のいずれを与えた場合にも低い有効応力(初期に生じた有効応力の大きさが0.0~4.1(Mega Pascal, MPa)、ひずみに換算すると0.0~347.5 μ strain)を示す領域よりも高い有効応力(初期に生じた有効応力の大きさが2.7~10.8MPa、ひずみに換算すると228.8~915.3 μ strain)を示す領域に骨形成が多くみられ、力学的刺激量と骨形成量は相関することがわかった。さらにBeaupréらの時間依存型の骨再構築理論を改良し、骨形成と骨吸収を独立した現象としてとらえ、様々な骨代謝状態に広く適用できる力学的骨再構築理論式を考案した。それを本実験に適用して骨欠損部での骨形成過程をシミュレーション計算により求めた。その結果は動物実験の結果と骨形成の全体的な傾向での満足いく一致が得られたことより、この新しい力学的骨再構築理論式は様々な骨代謝動態を表現するうえで有用であると考えられた。

Key words bone formation, compressive stress, tensile stress, three dimensional finite element method, bone remodeling theory

骨は置かれている力学的環境に対し、形態や密度を変化させて適応することが知られている。いいかえれば力学的刺激の与え方いかんによっては骨形成や骨吸収を制御することが可能になると考えられる。臨床的には骨折における骨癒合の促進、人工関節におけるボーン・イングロース(bone-ingrowth)の促進および弛み(loosening)の防止、骨延長では軸方向運動(dynamization)による仮骨の形成および成熟の促進など力学的刺激は骨形成に深く関与しており、より有効な治療を行うためには力学的刺激と骨形成との関係を定量的に把握することが望まれる。

以前に教室の酒井¹⁾は日本白色家兎の脛骨を用い、その長軸方向に間欠的に圧縮荷重を与える実験を行った。その結果300~800 μ strainの圧縮ひずみは骨形成を促進すると報告した。しかし引張ひずみについては検討していない。そこで今回は圧縮に加え引張荷重も与えられる実験装置²⁾を作成し、骨形成量と圧縮・引張のふたつの力学的刺激の関係を定量的に比較検討した。次いで動物実験の結果を用い、骨形成と力学的刺激との量的関係に関する理論式を提案した。

材料および方法

1. 実験動物

動物実験には成熟家兎45羽(日本白色家兎、雌、平均体重2.8 \pm 0.2kg、北陸実験動物、金沢)を用いた。麻酔はペントバル

ビタールナトリウム約3.5mlを耳介静脈より注入した。右下腿の内側より展開し、脛骨の骨膜を剝離した。腓骨を切除し、脛骨表面に骨蠟を塗った。脛骨の近位端15mmの位置とそこから遠位に70mmの間隔をあけて平行に各々1本ずつ径2mm、長さ70mmのステンレス製ピンを刺入し、2本のピンの中点に径3mmの円孔を作成した(図1)。創を洗浄した後ナイロン糸で縫合した。術後は脛骨に荷重がかからないように2本のピンをアクリルで作成した創外固定器で固定し、大腿から足尖までギプス固定した(図2)。

II. 荷重刺激装置と刺激方法

自動制御可能な荷重刺激装置³⁾(図3A, B)を作製した。その概要は以下のとおりである。支柱(脛骨取付け具)を固定した一對のテーブルをスライドシフト(直線運動案内)ボールスプライン2LBH20UU(THK, 東京)に取付け、またそのうち一方のテーブルに精密ボールねじBNT2005AZZ(THK)を取付けた。ステップモータUPD599H-A(オリエンタルモータ, 千葉)でこの精密ボールねじを回転し、テーブルを直線運動させることで荷重を発生させた。もう一方のテーブルはその端部をロードセル(荷重検出器)LU-A(共和電業, 東京)で固定し、作用する荷重が直接計測できるようにした。

荷重の計測およびモーターの制御はA/D変換ボードPNC-2198(ネオログ, 東京)とパルスモータコントロールモジュールPMC-1C(98)(コンテック, 東京)を介して全てパーソ

平成7年9月4日受付, 平成7年10月27日受理

Abbreviations: 3D-FEM, three dimensional finite element method; MPa, Mega Pascal

ナルコンピュータ PC-9801 (NEC, 東京) にて行った。このモニタリング機構によって毎回の荷重ごとに荷重量の計測が行われ、それに対応してステッピングモータの回転制御が行われるため、実験中に試料の特性の変化や鋼線刺入部でのゆるみが生じていても荷重を一定に保つことが可能であった。図4に実験装置全体の概要を示した。図5は実際の実験の状況を示す写真である。

45羽の家兔を15羽ずつ圧縮刺激群、引張刺激群、対照群の3群に分けた。1週、2週、4週群を設定し、各々5羽ずつ実験を行った。刺激群では脛骨に刺入したピンを介して圧縮または引張荷重を1日1時間、荷重量49N、周期0.5Hzの矩形波で間欠的に与えた。荷重を与える時間以外は創外固定とギプス固定を施した状態でケージの中で飼育した。対照群は創外固定とギプス固定を施した状態で荷重刺激を与えず、実験期間中を通して常にケージの中で飼育した。実験開始後1週、2週、4週で脛骨を摘出し、円孔周辺における骨形成を組織学的に評価した。

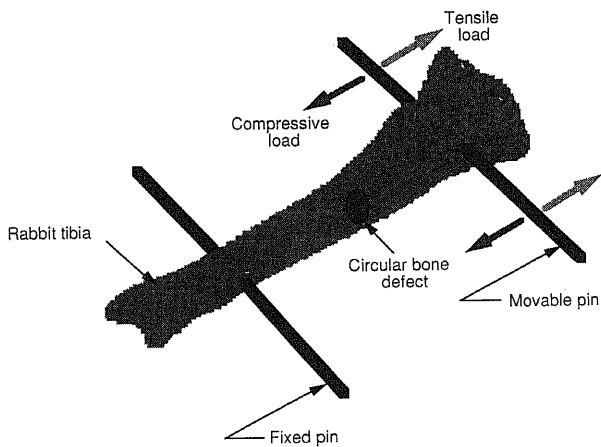


Fig. 1. Schema of the rabbit tibia with circular bone defect and pins. Fibula was excised. Two pins (diameter, 2 mm ; length, 70 mm) were inserted with the intervals of 70 mm. A circular bone defect of 3 mm in diameter was drilled halfway between the two pins. Compressive load (→) or tensile load (↔) was applied to the movable pin.

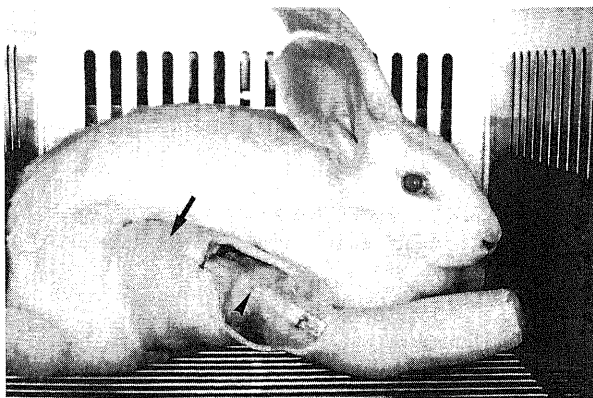


Fig. 2. Experimental animal in no loading state in a cage. The tibia was fixed with external fixator (arrow head) and cast (arrow).

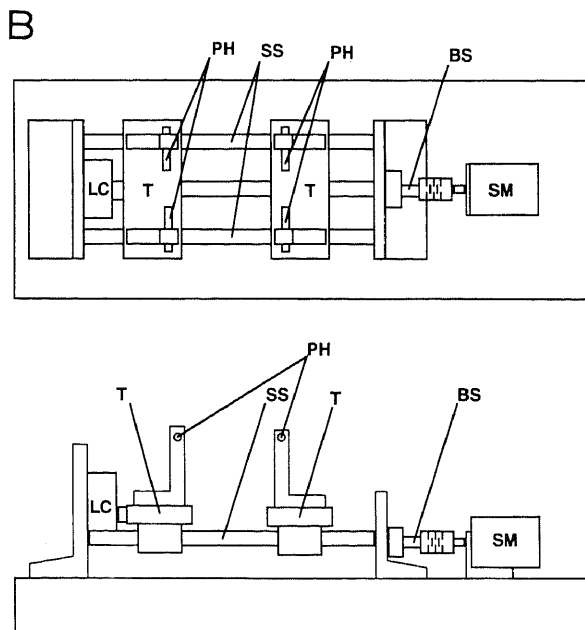
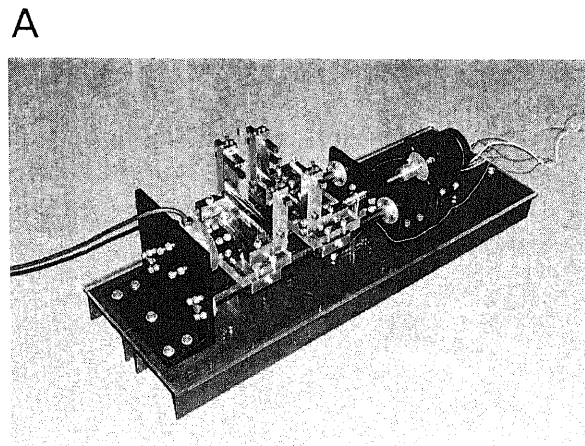


Fig. 3. Photograph (A) and schematic presentation (B) of the loading apparatus. Two pins are attached to each pin holder (PH). One table (T) is fixed to a load-cell (LC) while the other moves parallel to the longitudinal axis of the rabbit tibia so that the load can be measured through the load-cell. SS, slide shifter ; BS, ball screw ; SM, stepping motor.

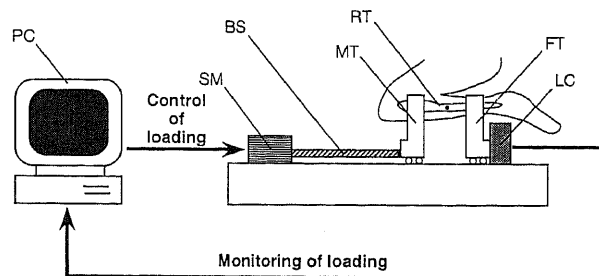


Fig. 4. Schema of the self-monitoring experimental apparatus. Loading is adjusted by the feed back system utilizing personal computer (PC). RT, rabbit tibia ; MT, movable table ; FT, fixed table ; BS, ball screw ; SM, stepping motor ; LC, load-cell.

Ⅲ. 組織標本の作成

摘出した脛骨を 10% ホルマリンで固定し、ブランク・リクロ脱灰液 (和光純薬, 大阪) にて脱灰した。内側骨皮質の円孔周囲のみを切り出し、それをパラフィン包埋し、矢状面すなわち円孔と平行な面でミクロトームを用いて厚さ約 $2\mu\text{m}$ の切片を作成し、HE 染色を施した。

Ⅳ. 力学的刺激量の定量

3次元有限要素法解析 (three dimensional finite element method, 3D-FEM) により力学的刺激量の定量を行った。使用したコンピュータは M760/20 (富士通, 東京) であり、ソフトウェアには金沢大学工学部機械システム工学科によりプログラムされた 3D-FEM を用いた。その方法は以下の如くである。

家兎脛骨の円孔近くの部分を図 6A に示す様な長円筒に近似して形状の対称性からその $1/4$ を解析の対象として要素分割 (図 6B) し、3D-FEM による解析を行って円孔周囲に作用する力学的刺激量を求めた。ここでは力学的刺激を代表する量として円孔縁のある一点に生ずる有効応力を用いて評価を行うものとした。解析は図 6B に示すように時計の 9 時方向を 0° 、12 時方向を 90° とし、円孔縁の各点を角度で表わすことにした。

Ⅴ. 骨形成量の定量

骨形成量の定量は次の手順で行った。標本をビデオマイクロスコープ CCDF-1 (島津製作所, 京都) で撮影し、RGB 変換ボード Image Grabber (Neotech, 東京) を介してパーソナルコンピュータ Macintosh Centris650 (アップルコンピュータ, 東京) に取り込み、グラフィックソフトウェア Photoshop (Adobe, Mountain view, California, USA) で二値化処理を行った後、粒子解析汎用画像ソフトウェア ULTIMAGE (GRAF-TEK, Voisins-Le-Bretonnex, FRANCE) を用いて画像解析し、円孔内に形成された骨の面積を計測した。骨形成量は最初の円孔の面積に対する比で表わすことにした。

Ⅵ. 力学的刺激量と骨形成量との相関

力学的刺激量と骨形成量を検討するため荷重刺激を与えた場合高い有効応力が生じる領域を領域 I、有効応力が低い領域を領域 II とし、各領域につきそれぞれ形成された骨の面積を計測した。骨形成が生じ、円孔の形状が変化すると当然円孔辺縁に生じる有効応力も変化するため、形状の変化が少ない実験開始後 2 週の標本につき解析を行った。

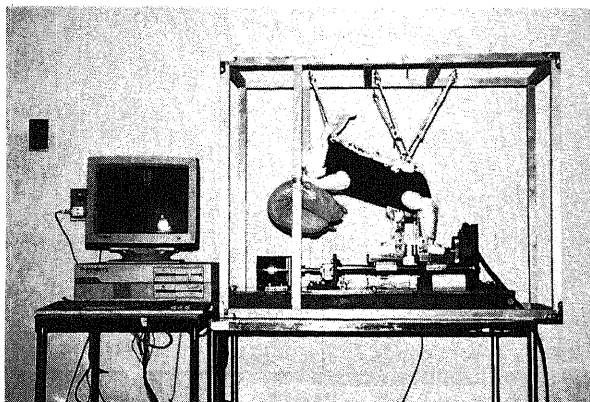


Fig. 5. Photograph of the experiment. The rabbit tibia is fixed to the stimulator. Intermittent compressive or tensile axial load of 49 N with 0.5 Hz is applied for an hour per day.

Ⅶ. 統計学的検討

骨形成量の統計学的有意差を検定するために、t-検定を用いて解析を行い、危険率 5% 未満を有意と判定した。

成 績

Ⅰ. 組織学的評価

実験開始後 1 週では圧縮刺激群、引張刺激群、対照群ともに骨形成はみられなかった。2 週では圧縮刺激群、引張刺激群ではともに荷重軸方向に平行な円孔辺縁部を中心に比較的多くの未熟骨の形成を認めた。これに対し荷重軸に垂直な円孔辺縁部には骨形成を認めないかまたは骨形成を認めても少量であった。対照群では骨形成を認めた例と認めなかった例がそれぞれ 2 例および 3 例あったが、骨形成を認めた 2 例では骨形成量が

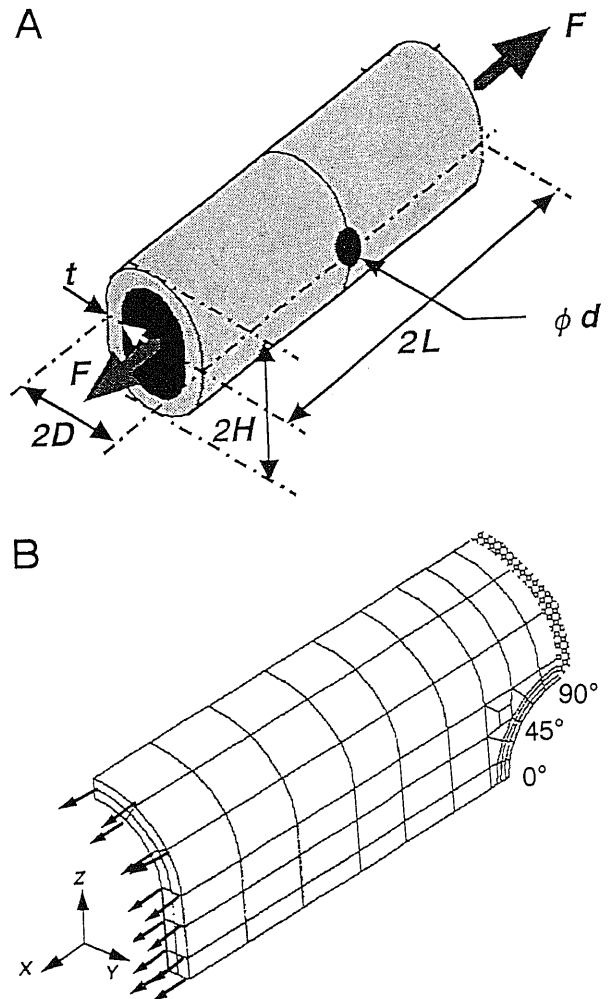


Fig. 6. Analytical model of rabbit tibia. (A) Elliptical cylinder model. Analysis was performed by approximating a part of the rabbit tibia near the circular bone defect to an elliptical cylinder. $F=49\text{ N}$, $L=10\text{ mm}$, $H=4\text{ mm}$, $D=4\text{ mm}$, $t=1\text{ mm}$, $d=3\text{ mm}$. (B) Finite-element subdivision. A quarter of the model is used as an object of analysis and the direction of nine o'clock is assumed to be 0° and the direction of twelve o'clock to be 90° . The distribution of real stress at a border of the circular bone defect that was generated by the compressive or tensile load of 49 N along the axial direction was analyzed by means of 3D-FEM.

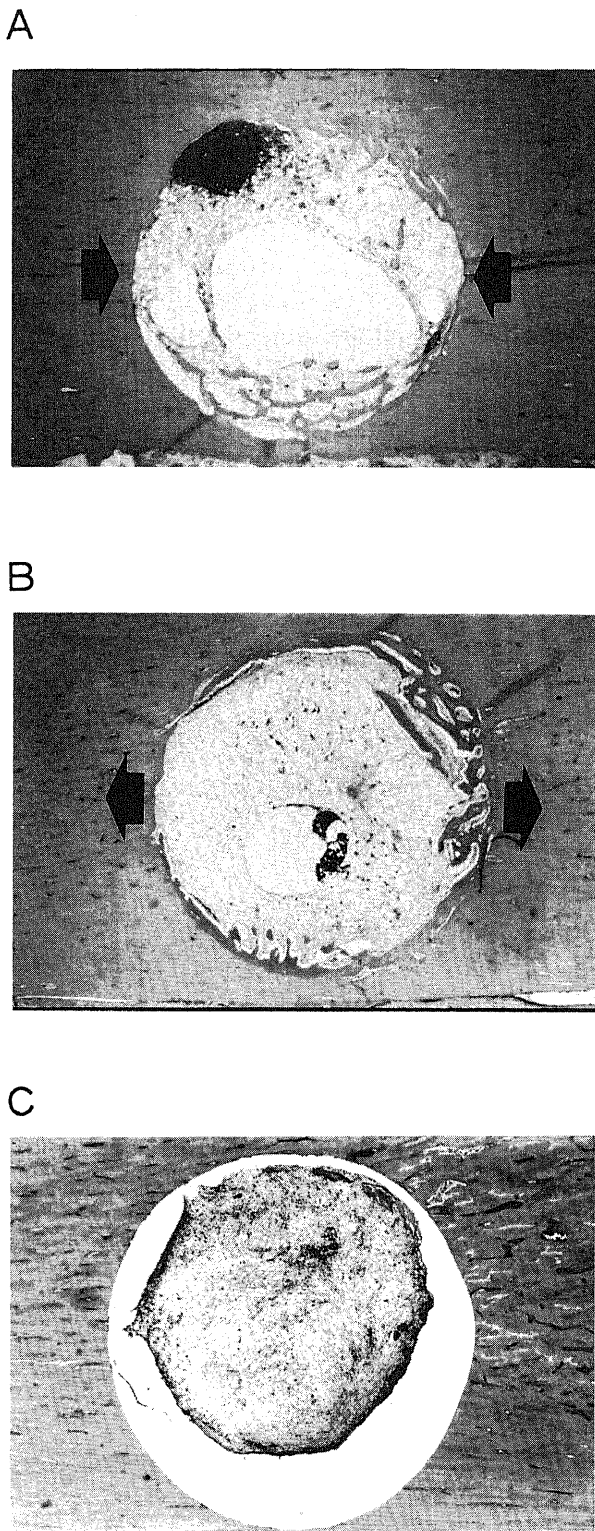


Fig. 7. Photographs of the sections perpendicular to the axis of the circular bone defect at two weeks after operation (hematoxylin-eosin stain, $\times 25$). (A) Compression group. (B) Tension group. (C) Control group. The arrow indicates loading direction. In both the compression and tension groups, immature bone formation was observed at the area parallel to the loading axis, but there was no or only slight bone formation at the area which was perpendicular to the loading axis. In the control group, bone formation was not observed.

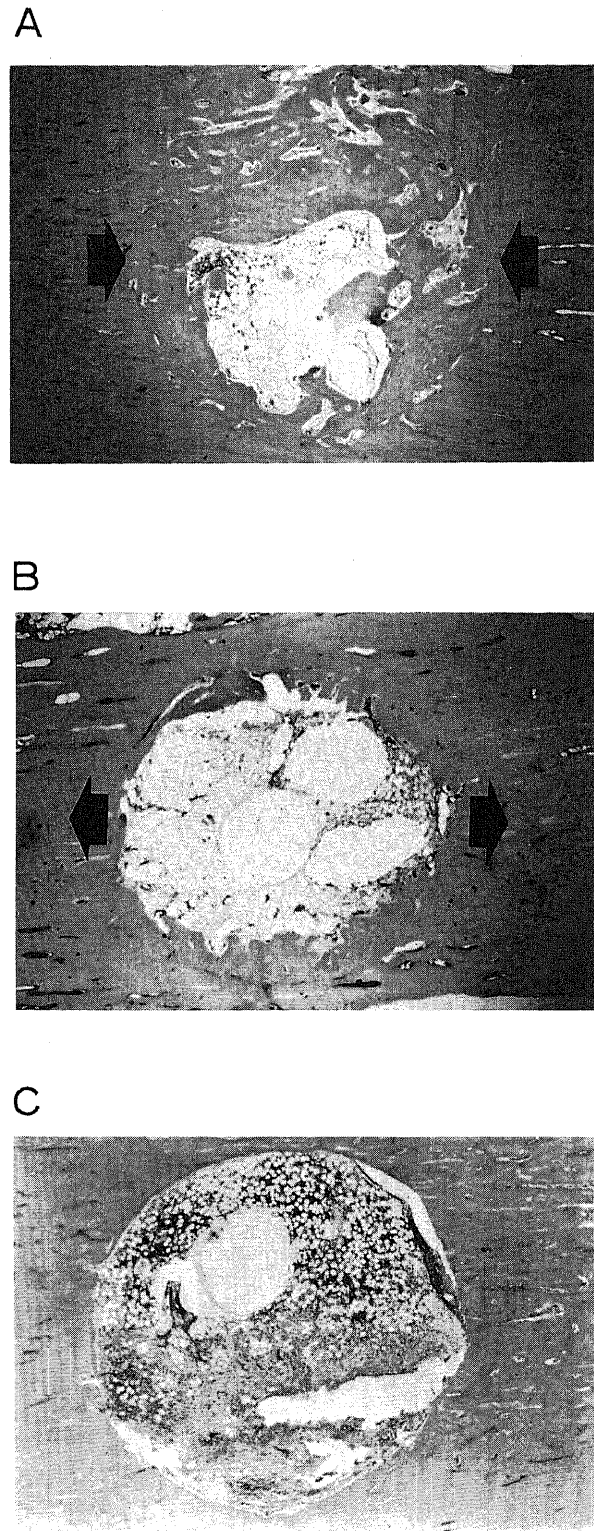


Fig. 8. Photographs of the sections perpendicular to the axis of the circular bone defect at four weeks after operation (hematoxylin-eosin stain, $\times 25$). (A) Compression group. (B) Tension group. (C) Control group. The arrow indicates loading direction. In both the compression and tension groups, the immature bone that had been observed at two weeks after operation had become mature and the bone formation extended to the center of the circular bone defect. In the control group, bone formation was observed but it was immature and was much less in amount than that of the compression and tension groups.

少なく発生部位も一定ではなかった(図7).

4週では2週の圧縮刺激群, 引張刺激群でみられた未熟骨は成熟した骨梁となり, 円孔の中心に向かい骨形成が進行していた. 対照群では骨形成を認めたが未熟骨であり, 刺激群と比較

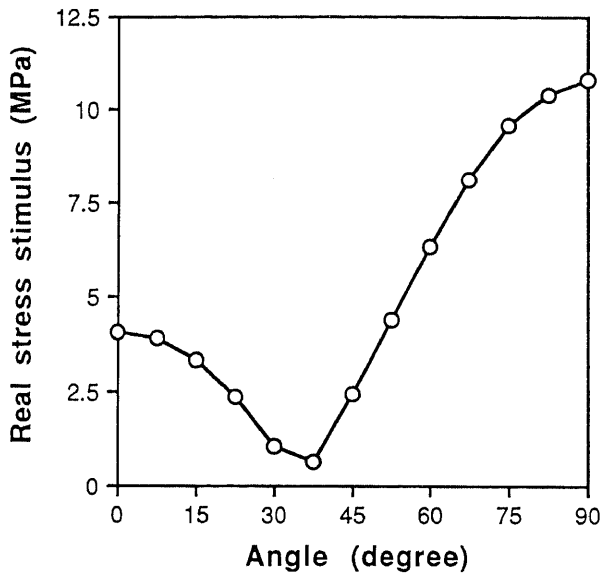


Fig. 9. Real stress distribution at a border of the circular bone defect. In high stress area (45°~90°), the real stress between 2.7 and 10.8 MPa was generated and in low stress area (0°~45°), the real stress between 0.0 and 4.1 MPa was generated.

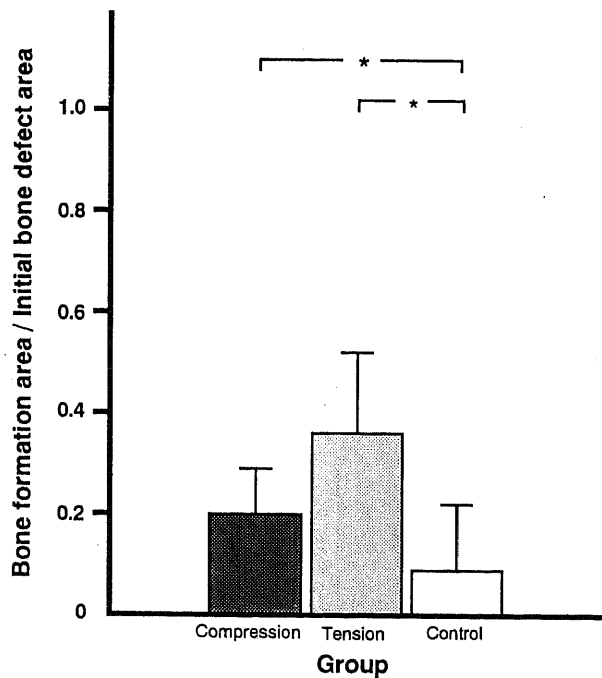


Fig. 10. Comparison of bone formation quantity among compression, tension and control groups at two weeks after operation. Quantity of bone formation was expressed as bone formation area/initial bone defect area ratio. The quantity of bone formation in both the compression and tension groups were larger than that in the control group (*p<0.05, by t-test).

して骨形成量も少なかった(図8).

II. 3D-FEM による力学的刺激量の定量

円孔辺縁に骨形成がみられない初期の状態では骨軸方向に49Nの圧縮または引張荷重を与えた場合に生じた円孔境界上の節点における有効応力の分布を図9に示した. 以上の結果をもとに円孔を有効応力が高い領域(45°~90°)と有効応力が低い領域(0°~45°)に区分した. 45°~90°の領域では2.7~10.8MPaの有効応力(ひずみに換算すると228.8~915.3μstrain)が生じ, 0°~45°の領域では0.0~4.1MPaの有効応力(ひずみに換算すると0.0~347.5μstrain)が生じた.

III. 画像解析による骨形成量の定量

画像解析処理装置を用いて実験開始後2週および4週で円孔内に生じた骨形成量を圧縮刺激群, 引張刺激群, 対照群の間で

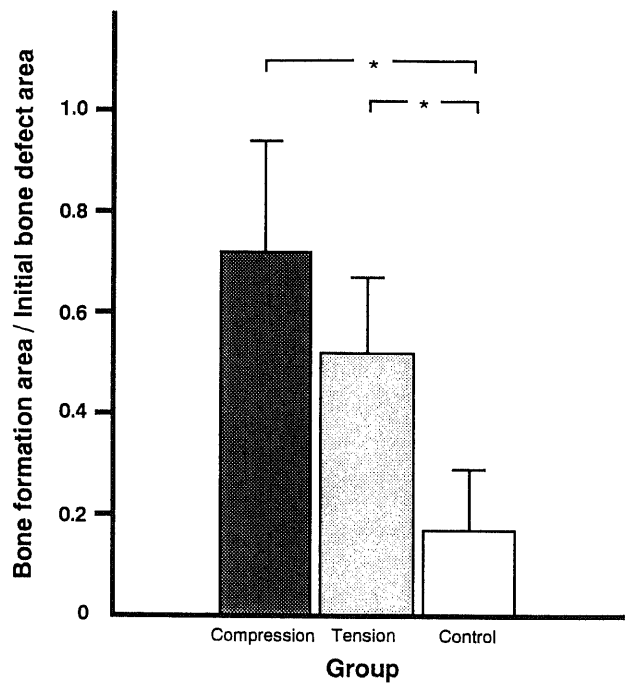


Fig. 11. Comparison of bone formation quantity among compression, tension and control groups at four weeks after operation. Quantity of bone formation was expressed as bone formation area/initial bone defect area ratio. The quantity of bone formation in both the compression and tension groups were larger than that in the control group (*p<0.05, by t-test).

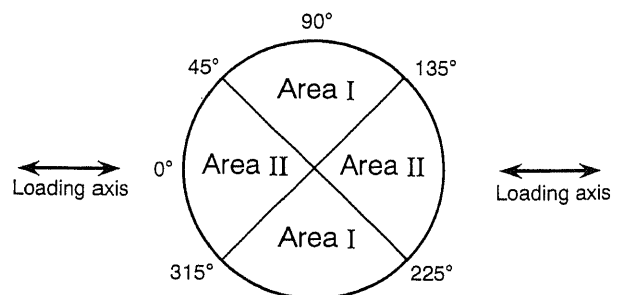


Fig. 12. Division of the circular bone defect into two areas. Relatively higher stress was generated in area I than in area II. Values of real stress generated were between 2.7 and 10.8 MPa in area I and between 0.0 and 4.1 MPa in area II.

定量的に比較した。実験開始後2週では圧縮刺激群および引張刺激群で対照群よりも骨形成量は多く (t-検定, $p < 0.05$), 圧縮刺激群と引張刺激群の間には有意差はなかった (図10)。実験開始後4週では2週と同様, 圧縮刺激群および引張刺激群で対照群よりも骨形成量は多く (t-検定, $p < 0.05$), 圧縮刺激群と引張刺激群の間には有意差はなかった (図11)。

IV. 力学的刺激量と骨形成量との相関

図9に示したように3D-FEMで円孔縁の 0° から 90° までの範囲につき生じた有効応力を求めた。円孔の対称性から解析の結果を円孔全体にあてはめた。力学的刺激量と骨形成量を検討するため円孔を図12に示すように高い有効応力が生じる領域I

($45^\circ \sim 135^\circ$, $225^\circ \sim 315^\circ$) と低い有効応力が生じる領域II ($315^\circ \sim 45^\circ$, $135^\circ \sim 225^\circ$) に区分した。圧縮および引張刺激群の領域Iでは $2.7 \sim 10.8 \text{MPa}$ の有効応力が, 領域IIでは $0.0 \sim 4.1 \text{MPa}$ の有効応力が生じており, 対照群ではどの領域においてもそこにはたらく有効応力は 0.0MPa である。これにより力学的刺激量と組織像より求めた骨形成量との比較が可能になった。

実験開始後2週において各群の領域Iと領域IIに生じた骨形成量を比較した結果, 対照群では有意差がなかったが圧縮および引張刺激群ではともに領域IIよりも領域Iにおいて多くの骨形成量を認めた (t-検定, $p < 0.05$) (図13A, B, C)。

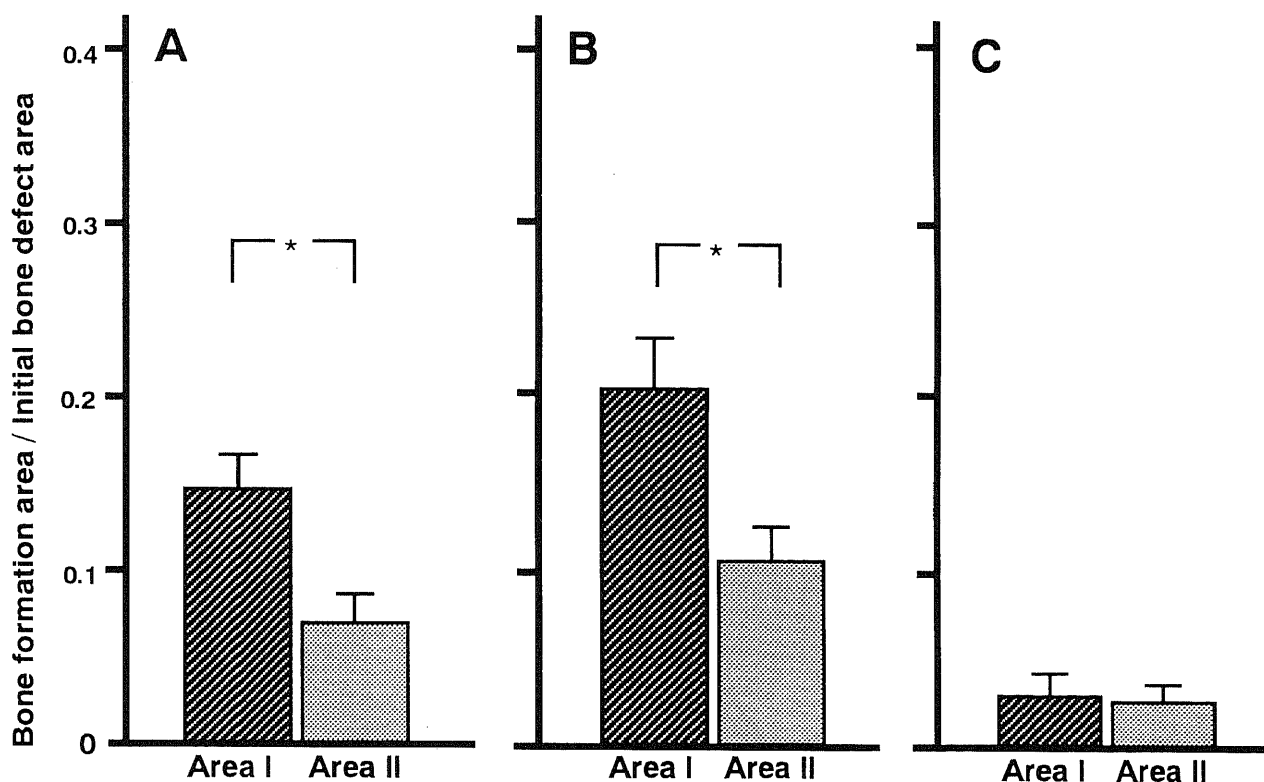


Fig. 13. Comparison of bone formation quantity between areas I and II in the two-week specimen. (A) Compression group. (B) Tension group. (C) Control group. The quantity of bone formation in area I was larger than that in area II in both the compression group and the tension group (* $p < 0.05$, by t-test) whereas there was no significant difference in the control group.

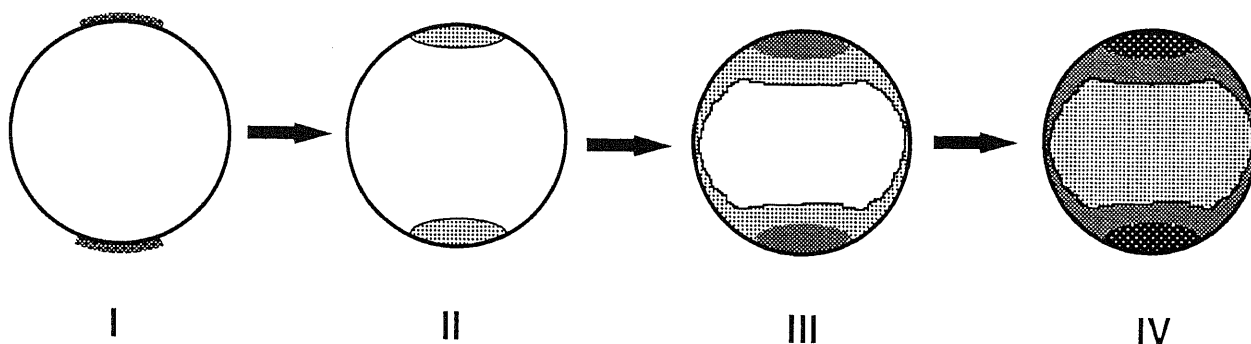


Fig. 14. Schema of deduced repair process of the circular bone defect under loading condition. (I) Stress concentrates on the indicated areas of the circular bone defect which are parallel to the loading axis. (II) New bone is formed at the area with high stress. Stress in the area adjacent to the newly formed bone then becomes larger due to the stress concentration effect. (III) This stimulates bone formation in this area. (IV) This process repeats and finally the newly formed bone fills the defect.
 □, newly formed bone; ▨, mature bone; ■, maturer bone.

考 察

古くから力学的刺激と骨形成に関する研究⁹⁻¹⁷⁾は数多くなされているが両者の間にはそれ以外の複雑な要因が関与しており、未だほとんど解明されていない。本研究では次の2点すなわち1) 骨形成に対する圧縮応力および引張応力の影響を明らかにする、2) 力学的刺激と骨形成の定量的な相関を明らかにする、について検討を行った。そのため本研究ではまず正確に一定条件下で荷重刺激を与えられる荷重刺激装置を作成し、また圧縮と引張荷重を与えられるようにした。骨形成量に関しては画像解析処理による定量化を行った。

圧縮応力は過去の研究¹²⁾¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁷⁾¹⁸⁾および臨床的な経験より骨形成を促進することが明らかであるとされている。一方、引張応力については未だに議論が多い。Chamayら¹⁹⁾はイヌの尺骨を用い、圧縮応力により骨形成の促進が得られ、引張応力により骨萎縮がみられたと報告し、引張応力による骨形成的影響に対して否定的な意見を述べている。一方、肯定論としては古くは1951年にMaatz¹⁰⁾は骨髓腔内にバネを入れて長管骨に引張応力を与えると仮骨が形成されることを証明し、それを保田¹¹⁾が追試し、圧縮応力の生じる部位のみならず引張応力の生じる部位にも仮骨が形成されると報告した。松下ら¹⁶⁾は家兎脛骨に骨折を作り、圧縮あるいは引張運動を与え、いずれの運動も骨癒合を促進したと報告している。このように議論が分かれているのは長管骨に引張応力を与える場合、従来より実験系の作成が容易でなかったことが原因と考えられる。その点に対応すべく今回の実験では正確に引張刺激を加えることが可能な荷重刺激装置を作成した。

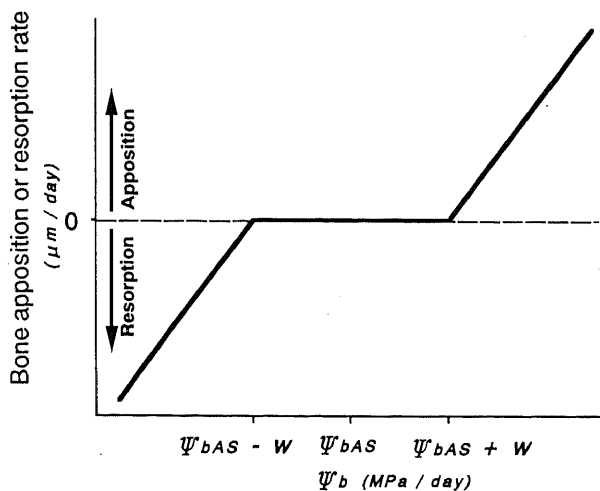


Fig. 15. Relationship between bone apposition or resorption rate and tissue stress stimulus in bone remodeling theory of Beaupré et al. The bone apposition and resorption are equilibrated each other while values of tissue stress stimulus (ψ_b) are normal, within the range between $\psi_{bAS}-w$ and $\psi_{bAS}+w$. The normal stress stimulus is called as attractor state stress stimulus (ψ_{bAS}). w is a half-width of the normal stress stimulus range. The bone apposition or resorption occurs in proportion to difference between the applied tissue stress stimulus and the normal range of tissue stress stimulus.

今回の実験の結果から圧縮応力のみならず引張応力もともに骨形成を促進すると結論できる¹⁹⁾²⁰⁾。応力の大きさと骨形成量の関係については、3D-FEMにより得られた円孔辺縁部の有効応力と実験開始後2週目の組織像および画像解析の結果を対比すると、初期に生じた有効応力の大きさが0.0~4.1MPa(ひずみに換算すると0.0~347.5 μ strain)の部位(領域II)に比べ、2.7~10.8MPa(ひずみに換算すると228.8~915.3 μ strain)の部位(領域I)に生じた骨形成量は有意に大きく、すなわち圧縮応力および引張応力のいずれを与えた場合にも骨形成量は力学的刺激量に相関するという結果が得られた。一方、力学的刺激を与えていない対照群でも骨形成が生じている例もあったが発生部位は一定でなく、骨形成量も刺激群に比して少量であった。これは力学的刺激によらない骨形成であり、本実験の場合皮質骨に骨欠損を作成したため自然修復機転が働いたものと考えられる。実験開始後4週の圧縮および引張刺激群では2週よりも多くの、しかも成熟した骨梁が形成されていたが、対照群では少量の未熟骨が認められるのみであった。本実験の結果では引張刺激でも圧縮刺激と同様に骨の形成量、成熟度はともに促進され、力学的刺激量の増加に応じ、骨形成がより促進することが明らかとなった。さて動物実験の結果から円孔の形態は酒井⁷⁾が提案した図14に示す様な経時の変化を遂げていると考えられる。すなわち、まず初めに最も応力が集中する荷重方向に平行な円孔辺縁部より骨形成が始まる。そしてこの骨形成によって応力の集中する部位が新生骨と円孔辺縁部との境界および新生骨の辺縁に移動し、この部位に骨形成が加わる。またその他の円孔辺縁部にも加わる応力の大きさに応じた骨形成が生じる。このように新生骨の形成により骨欠損部の形態が刻々と

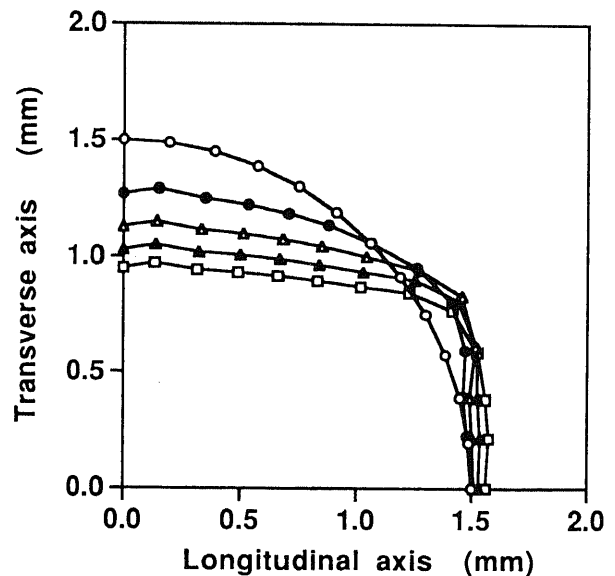


Fig. 16. Changes of defect shape on computer simulation in accordance with the theory of Beaupré et al. The defect shape was revealed at intervals of a week. Each plot mark represented the border of the defect of each week. Bone apposition around the upper boundary where the real stress was considerable could be revealed but at the right boundary, bone resorption also could be seen. ○, initial; ●, 1 week after operation; △, 2 weeks after operation; ▲, 3 weeks after operation; □, 4 weeks after operation.

変化を遂げ、それに対応して応力の分布も変化し、応力が集中する部位に骨形成が生じる。この繰り返しのよって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。これより円孔辺縁に加わる応力の総和が大きい部位ほど骨形成が促進されることが理解される。このことから力学的刺激量と骨形成量の関係式の存在が示唆され、これが確立されれば骨形成の動態に対する理論的な予測が可能となり、臨床の場で日々遭遇する様々な問題に対し根拠のある解決策が得られることになる。そこで次に骨形成と力学的刺激を関連づける理論式につき考察する。

骨形成と力学的刺激を関連づける理論式、すなわち骨再構築理論は従来より提案されており²¹⁻²⁴、そのひとつに Beupré ら²²の骨再構築理論がある。そこで先ず Beupré らの理論をパラメータのみを調節することで本実験に適用させ、これを検証した^{25,26}。

力学的刺激量と骨形成および骨吸収の関係は Beupré らの理論では図15のグラフの様に表わされる。すなわち骨形成および骨吸収は、通常生体が受ける刺激量において平衡状態にあると考える。そしてこれよりも刺激量が大きくもしくは小さくなった場合、平衡状態における刺激量 ψ_{bas} と力学的に生体組織に作用する刺激量 ψ_b との差に比例して骨形成もしくは骨吸収

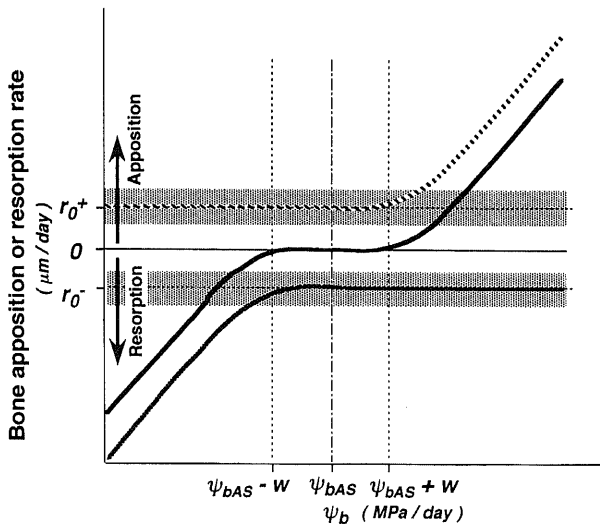


Fig. 17. Relationship between bone apposition or resorption rate and tissue stress stimulus in generalized bone modeling theory. Bone apposition of osteoblasts and bone resorption of osteoclasts are treated separately and independently in the theory. Bone apposition is affected constantly by the range named as metabolic influence. Bone apposition takes the constant value r_0^+ while tissue stress stimulus (ψ_b) is less than $\psi_{bas} + w$. Bone apposition is calculated in proportion to the applied tissue stress stimulus if it is larger than the normal range of tissue stress stimulus, $\psi_{bas} + w$. Bone resorption is affected constantly by the range of metabolic influence. Bone resorption takes the constant value r_0^- while tissue stress stimulus is larger than $\psi_{bas} - w$. Bone resorption is calculated in proportion to the applied tissue stress stimulus if it is less than the normal range of tissue stress stimulus, $\psi_{bas} - w$. Both r_0^+ and r_0^- can be changed within the range of metabolic influence (shaded area) according to metabolic state. Total apposition or resorption is the sum of bone apposition and bone resorption. ·····, bone apposition; - - - - -, bone resorption; ———, total apposition or resorption.

が起こると考え、1日当たりの骨形成量すなわち骨形成速度が定義される。ここで w は平衡状態の範囲を表す不感帯幅である。

ψ_{bas} は自然な状態にある正常な家兎の脛骨に作用すると考えられる応力と刺激回数より算出する。家兎の体重 25N の1.5倍が長軸方向に作用すると考え、脛骨中央部の断面積を 18mm^2 として有効応力を計算する。刺激回数を1日あたり5000回と考えると ψ_{bas} を計算すると 25MPa/日 となった。 w の値は Beupré らに準じて ψ_{bas} の10%とした。またグラフの傾きについては教室の勝木ら²⁷の家兎を用いた廃用性骨萎縮実験の結果を参考にし、骨吸収に関しては $1.0 (\mu\text{m/日})/(\text{MPa/日})$ と与えた。 Beupré らの理論では骨形成も骨吸収もグラフの傾きを等しい値に設定しており、本研究でも骨形成のグラフの傾きを骨吸収と同値にした。

以上の理論をもとに図6A, Bに示すような家兎脛骨での実験に対応して、中央に円孔を有する脛骨が49Nの軸力を0.5Hzの周期で1日1時間受ける時の、脛骨の骨代謝変化を計算した。そして特に右上1/4の円孔周辺における形状変化の過程をシミュレートした(図16)。実験では刺激開始後4週までの標本が得られているので、計算も4週まで行なった。図中の線は1週間毎の円孔の境界線を表している。この結果では応力が高く刺激量の大きい上下円孔縁で顕著な骨形成が見られており、組織標本における円孔の形状変化とほぼ似通ったものとなっている。これより Beupré らの理論は本実験にもおおよそ適用可能であることが認められた。しかし詳細に検討すると刺激量の小さい左右縁では骨吸収が生じており、実際に動物実験で得られた組織の形状変化が忠実にシミュレートされているとはいえない

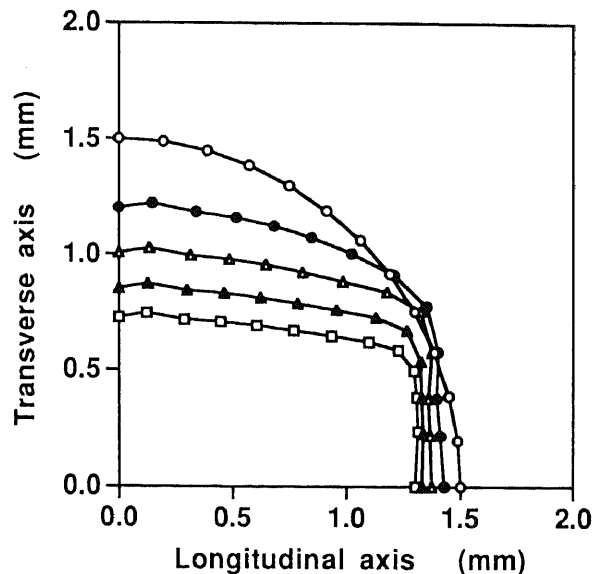


Fig. 18. Changes of defect shape on computer simulation in accordance with the generalized bone modeling theory. The defect shape was revealed at intervals of a week. Each plot mark represented the border of the defect of each week. The metabolic influence was set as $r_0^+ = 2r_0^-$. Bone apposition around the upper boundary where the real stress was considerable could be revealed and bone resorption could not be seen. ○, initial; ●, 1 week after operation; △, 2 weeks after operation; ▲, 3 weeks after operation; □, 4 weeks after operation.

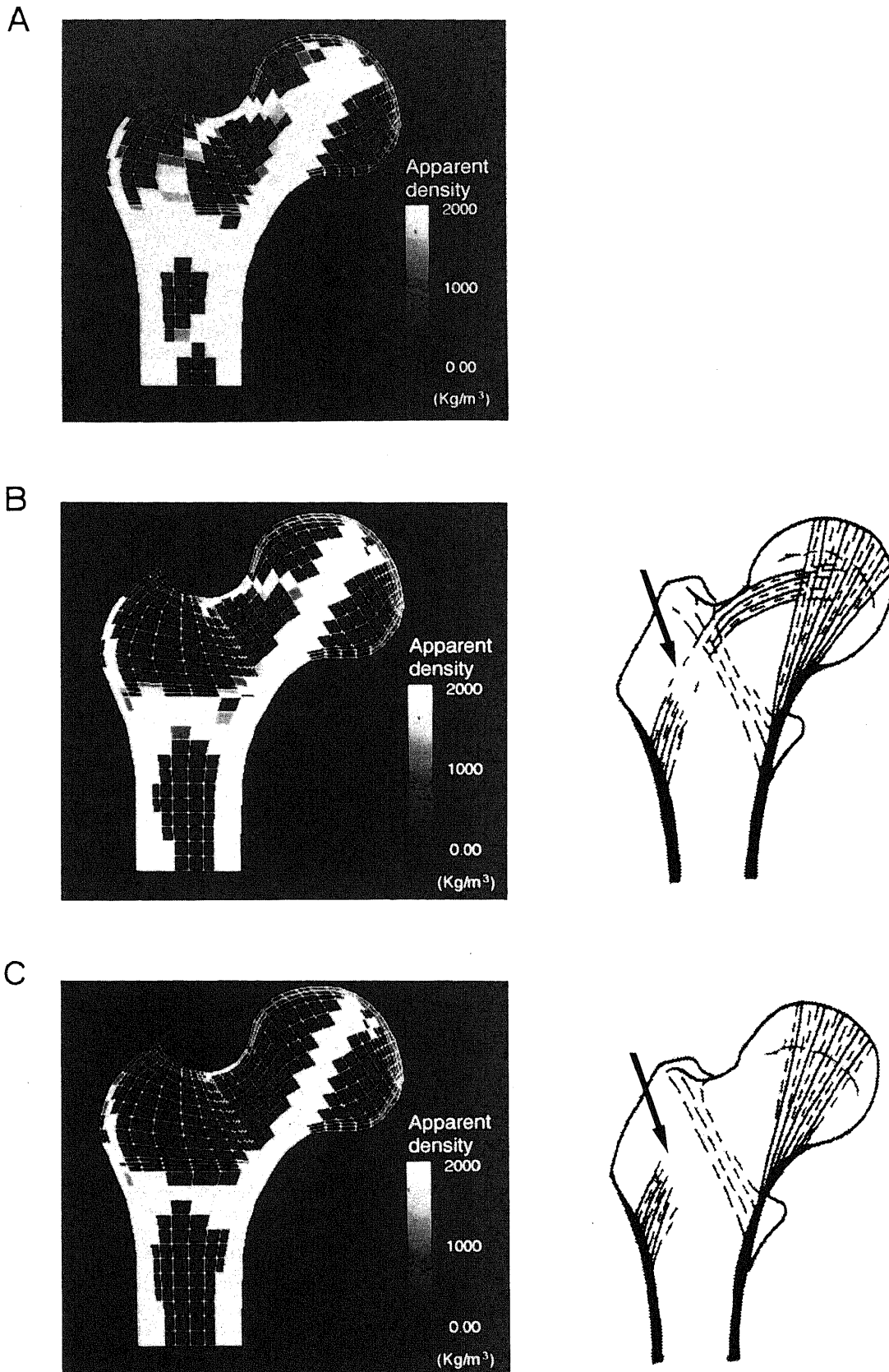


Fig. 19. Predicted distribution of bone apparent density after 32 weeks. (A) Normal remodeling case ($r^-_0=r^+_0=0.10 \mu\text{m}/\text{day}$). (B) Osteoporosis case ($r^-_0=1.5 r^+_0=0.15 \mu\text{m}/\text{day}$). Bone apparent density obtained by computer simulation and osteoporosis schema of grade 3 type by Singh's classification in which a part of arched bundle is lost (arrow). (C) Osteoporosis case ($r^-_0=2.0 r^+_0=0.20 \mu\text{m}/\text{day}$). Bone apparent density obtained by computer simulation and osteoporosis schema of grade 2 type by Singh's classification in which whole of arched bundle is lost (arrow).

い、本実験のように骨欠損を作成した場合力学的刺激によらない修復機転が働くため刺激量が低い部位でも骨吸収量が骨形成量を上回ることがないと考えられる。このような修復による骨形成についてはこの理論式では表現することが不可能であり、したがって骨修復がより支配的な影響を及ぼす現象に対してこれを適用するためには、修復特有の現象を考慮した改良が必要と考えられる。

そこで今回、Beaupréらの理論を改良し、骨代謝状況を考慮にいたれた理論式を新たに考案した。この理論においては骨形成は骨芽細胞により、骨吸収は破骨細胞により行われることからそれぞれが別個に行われると考え、円孔縁上の一点に生じる1日当たりの骨形成量を r^+ 、骨吸収量を r^- と表わすことにする。よって実際に骨組織で生じる骨形成あるいは骨吸収の量 r はこれらの和で表わされ、すなわち $r=r^++r^-$ で与えられることになる。骨形成量 r^+ は刺激量が平衡刺激領域まで一定値 r_0^+ をとり、それを越えると刺激量に比例して骨形成量が増加し、一方同様に骨吸収量 r^- は刺激量が平衡刺激領域以上では一定値 r_0^- をとり、それ未満では負の比例関係にあるものと仮定した。以上の関係をグラフに表わすと図17に示すようになる。 w は骨形成と骨吸収が平衡状態にある範囲を表す不感帯幅であり、骨組織が受ける刺激量が平衡領域よりも大きくもしくは小さくなった場合、平衡状態における刺激量 ϕ_{bas} と作用する刺激量 ϕ_a との差に比例して骨形成もしくは骨吸収が起こると考える。この理論モデルでは全身的な因子や骨組織の状態によって骨代謝が変化することを考慮して骨形成速度あるいは骨吸収速度に代謝の影響と称する幅を設定し、その範囲内で r_0^+ および r_0^- が変化させられるようにした。

シミュレーションの方法はBeaupréらの理論を適用した場合と同様に行った。動物実験において骨欠損を作成した場合力学的刺激を与えなくても骨欠損部に骨形成が生じ、時間の経過とともに修復されることが確認された。骨修復が起こっている状態では骨形成速度が骨吸収速度を上回っており、これは数式上では $r_0^+>r_0^-$ と表わされる。そこで今回は以上のような骨欠損における自然修復機転を考慮し、 $r_0^+=2r_0^-$ と設定した。計算で得られた円孔の形状変化の過程を刺激開始後4週までにつき図18に示した。図中の線は1週間毎の円孔の境界線を表している。この結果では、応力が高く刺激量の大きい上下円孔縁で顕著な骨形成が見られ、左右縁での骨形成はごくわずかとなっている。さらにBeaupréらの理論を適用した際にみられた、最も応力の低い部位における骨吸収は認められず、実際に動物実験で得られた組織の形状変化を忠実にシミュレートしていると考えられる。

実際の臨床では各個体により骨芽細胞や破骨細胞の活動は当然異なっており様々な状況にあわせて適用を可能とした本理論式は最も実用的であると考えられる。最後に一例として大腿骨近位部を対象とした骨再構築を骨粗鬆症の場合を想定してシミュレーションを行った結果を示す。正常の状態を $r_0^+=r_0^-=0.10\mu\text{m}/\text{日}$ としてシミュレーションを行った。X線像と比較すると骨梁のパターンは類似しており、シミュレーションの結果は妥当なものと評価される(図19A)。次に軽度の骨粗鬆症を想定して $r_0^-=1.5r_0^+=0.15\mu\text{m}/\text{日}$ と設定し、重症の骨粗鬆症を想定して $r_0^-=2.0r_0^+=0.20\mu\text{m}/\text{日}$ と設定して同様にシミュレーションを行ったところ骨粗鬆症の評価法であるSinghの分類のgrade3およびgrade2の状態に対応していると考えられる

(図19B, C)。このように本理論式は個々の骨代謝状態に応じて骨の形態の変化や骨密度の変化をシミュレートすることができ、実際の臨床例における予測を行う上で有効であり、様々な状況の骨再構築シミュレーションに広く応用できるものと考えられる。

結 論

1. 家兎脛骨に骨欠損を作成し、圧縮荷重および引張荷重を与え、骨欠損部に生じた骨形成量を定量的に評価した。
2. 圧縮荷重だけでなく引張荷重でも骨形成が促進することが明らかとなった。
3. 圧縮荷重および引張荷重のいずれを与えた場合にも低い有効応力(初期に生じた有効応力の大きさが $0.0\sim 4.1\text{MPa}$ 、ひずみに換算すると $0.0\sim 347.5\mu\text{strain}$)を示す領域よりも高い有効応力(初期に生じた有効応力の大きさが $2.7\sim 10.8\text{MPa}$ 、ひずみに換算すると $228.8\sim 915.3\mu\text{strain}$)を示す領域に骨形成が多くみられ、力学的刺激量と骨形成量は相関することがわかった。
4. 骨形成と骨吸収を独立した現象としてとらえ、様々な骨代謝状態に広く適用できる力学的骨再構築理論式を提案した。
5. 力学的骨再構築理論式を用い、骨欠損部での骨形成過程をシミュレーション計算により求めた。その結果は動物実験の結果と骨形成の全体的な傾向での満足のいく一致が得られたことより、この新しい力学的骨再構築理論式は様々な骨代謝状態を表現するうえで有用であると考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました恩師富田勝郎教授および、直接御指導、御教示をいただきました末吉泰信講師、富山市民病院整形外科沢口毅博士、金沢大学工学部機械システム工学科尾田十八教授、坂本二郎助手に深甚なる謝意を表します。また本研究に御助力をいただきました上市厚生病院整形外科酒井康一郎博士、金沢大学医学部田畑繁之文部技官、金沢大学工学部小林啓昭氏、仲埜八立氏、剣持悟氏および標本作成に御協力いただいた中森静枝氏、並井洋子氏に衷心より深謝の意を表します。

なお、本研究は平成4、5、6年度文部省科学研究補助金重点領域研究「バイオメカニクス」によるものであります。

本論文の要旨の一部は第19回整形外科バイオメカニクス研究会(1992, 東京)、日本整形外科学会基礎学術集会(1993, 長野)、第20回日本臨床バイオメカニクス学会(1993, 京都)、Second World Congress of Biomechanics(1994, Amsterdam, Netherlands)において発表した。

文 献

- 1) 酒井康一郎: 力学的刺激による骨形成に関する実験的研究. 十全医会誌, 101, 557-570 (1992).
- 2) 青山和裕, 末吉泰信, 富田勝郎, 沢口 毅, 酒井康一郎, 坂本二郎, 尾田十八: 骨形成実験のための荷重刺激装置の改良. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 14, 181-185 (1992).
- 3) 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, 92-96 (1988).
- 4) 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学会誌, 11, 191-194 (1989).
- 5) Turner, C. H., Akhter, M. P., Raab, D. M., Kimmel, D. B. & Recker, R. R.: A noninvasive, in vivo model for

- studying strain adaptive bone modeling. *Bone*, 12, 73-79 (1991).
- 6) 高久田和夫: 骨のデザイン. 設計工学, 28, 329-334 (1993).
- 7) O'Connor, J. A., Lanyon, L. E. & MacFie, H.: The influence of strain rate on adaptive bone remodeling. *J. Biomech.*, 15, 767-781 (1982).
- 8) Pead, M. J., Skerry, T. M. & Lanyon, L. E.: Direct transformation from quiescence to bone formation in the adult periosteum following a single brief period of bone loading. *J. Bone and Miner. Res.*, 3, 647-656 (1988).
- 9) Cowin, S. C.: Mechanical modeling of the stress adaptation process in bone. *Calcif. Tissue Int.*, 98-103 (1984).
- 10) 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).
- 11) Lanyon, L. E.: Strain-related bone modeling and remodeling. *Top. Geriatr. Rehabil.*, 4, 13-24 (1989).
- 12) 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).
- 13) Kenwright, J. & Goodship, A. E.: Controlled mechanical stimulation in the treatment of tibial fractures. *Clin. Orthop.*, 241, 37-47 (1989).
- 14) Goodship, A. E., Lanyon, L. E. & McFie, H.: Functional adaptation of bone to increased stress. *J. Bone Joint Surg.*, 61-A, 539-546 (1979).
- 15) Chamay, A. & Tscantz, P.: Mechanical influences in bone remodeling. Experimental research on Wolff's law. *J. Biomech.*, 5, 173-180 (1972).
- 16) Maatz, R.: Die Reaction des Knochens auf Federdruck. *Arch. orthop. Unfallchir.*, 44, 529-539 (1951).
- 17) 保田岩夫: 骨折治療に関する基礎的諸問題. 京都医学会雑誌, 4, 395-406 (1953).
- 18) 松下 隆, 黒川高秀: 骨癒合を促進する機械的条件. 一圧縮と引張りとの比較-. 日整会誌, 65, S1216 (1991).
- 19) 青山和裕, 末吉泰信, 富田勝郎, 沢口 毅, 酒井康一郎, 坂本二郎, 尾田十八: 骨形成に及ぼす力学的刺激の影響(組織学的検討). 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 15, 79-84 (1994).
- 20) Aoyama, K., Sueyoshi, Y., Tomita, K., Sawaguchi, T., Sakai, K., Sakamoto, J. & Oda, J.: Effect of Mechanical Stimuli on Healing of Bone Defects in the Rabbit Tibia. *Clinical Biomechanics and Related Research*, 1st ed., p34-43, Springer-Verlag, Tokyo, 1994.
- 21) Huiskes, R., Weinans, H., Grootenboer, H. J., Dalstra, M., Fudala, B. & Slooff, T. J.: Adaptive bone-modeling theory applied to prosthetic-design analysis. *J. Biomechanics*, 20, 1135-1150 (1987).
- 22) Beaupré G. S., Orr, T. E. & Carter, D. R.: An approach for time-dependent bone modeling and remodeling-application: a preliminary remodeling simulation. *J. Orthop. Res.*, 8, 662-670 (1990).
- 23) Beaupré G. S., Orr, T. E. & Carter, D. R.: An approach for time-dependent bone modeling and remodeling-theoretical development. *J. Orthop. Res.*, 8, 651-661 (1990).
- 24) Weinans, H., Huiskes, R. & Grootenboer, H. J.: Effects of material properties of femoral hip components on bone remodeling. *J. Orthop. Res.*, 10, 845-853 (1992).
- 25) 坂本二郎, 尾田十八, 青山和裕, 末吉泰信, 富田勝郎, 沢口 毅: 骨形成に及ぼす力学的刺激の影響-理論モデルによる検討-. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 15, 73-77 (1994).
- 26) Sakamoto, J., Oda, J., Aoyama, K., Sueyoshi, Y., Tomita, K. & Sawaguchi, T.: The Mechanical Adaptive Remodeling Theory: Its Application to Bone Formation and a Comparison with Experiments on Rabbit Tibia. *Clinical Biomechanics and Related Research*, 1st ed., p25-33, Springer-Verlag, Tokyo, 1994.
- 27) 勝木保夫, 松本忠美, 仲 克巳, 西野 暢, 富田勝郎: 外傷性骨萎縮定量の実験モデル. 日整会誌, 66, s1261 (1992).

Experimental Study of Bone Formation and Mechanical Stimuli and its Theorization Kazuhiro Aoyama, Department of Orthopaedic Surgery, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., **104**, 668—679 (1995)

Key words bone formation, compressive stress, tensile stress, three dimensional finite element method, bone remodeling theory

Abstract

Although it is well known that bone responds to mechanical stimuli, details of this phenomenon are still uncertain. In order to study the quantitative relationship between bone formation and mechanical stimuli, an experiment using rabbits and three dimensional finite element analysis was conducted. Two pins (diameter, 2 mm; length, 70 mm) were inserted in the rabbit tibia 70 mm apart and a circular bone defect (diameter, 3 mm) was made halfway between the two pins. The 3 mm circular bone defect produced a wide range of stress distribution. Intermittent compressive or tensile axial load of 49 N with 0.5 Hz was applied for an hour per day to the rabbit tibia through the two pins. Bone formation at the circular bone defect was evaluated histologically. Also, the real stress generated around the circular bone defect was analyzed by three dimensional finite element method. The histologies of bone formation and the real stress distribution were compared. The results showed both compressive and tensile stress generated bone formation, and more bone formation was observed in the higher stress (2.7 to 10.8 MPa) concentrated area than in the lower stress (0.0 to 4.1 MPa) area. It was clarified that mechanical stimuli related with bone formation. Furthermore we innovated the time-dependent bone remodeling theory proposed by Beaupré et al.. In our theory, bone formation and resorption were treated as an independent phenomenon, and it was found that the theory could be widely applied to various kinds of bone metabolism. Bone formation process in the circular bone defect was calculated by computer simulation applying the theory to this experiment. As the simulation coincided well with the experimental results, this new mechanical adaptive bone remodeling theory proved to be effective in expressing various bone metabolic states.