

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20682

研究課題名(和文) 関節軟骨の微細構造に着目した関節疾患の発症・進展メカニズム解明

研究課題名(英文) Study on mechanisms of the development of Joint disease focused on microstructure of articular cartilage

研究代表者

大澤 恭子(Osawa, Takako)

近畿大学・生物理工学部・助教

研究者番号：30638193

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：軟骨力学特性変化に起因する関節疾患の発症・進展メカニズムを立証するために、軟骨変性の影響を詳細に解析できる微細構造に基づく軟骨力学モデルによる応力解析を試みた。微細構造に基づく軟骨力学モデルの入力データとして、X線位相差ダイナミックCTを応用し、繰り返し圧縮による変形を受ける関節軟骨組織内の有用な実測データを蓄積した。軟骨の局所的な軟化として、表層の弾性係数の低下による影響を評価した。股関節表面に軟骨層を模した解析を実行したが、軟骨層モデルでは要素分割アルゴリズムの限界から軟骨層は1層しか再現できなかった。独自の関節軟骨モデルによる軟骨下骨そして骨部分の再現が課題となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

軟骨の力学特性(弾性係数)の変化と力学環境(ひずみ)との因果関係を定量的に評価可能な関節疾患モデルの実現を本課題の学術的問いの一つとして位置付けているが、最も重要視していることは今までできなかった組織変性の影響を詳細に解析することにより、軟骨力学特性変化が起源となる関節疾患の発症・進展メカニズムを明らかにすることである。本研究のように軟骨内部の特性変化に着目した研究はほとんど行われていない。今回は関節構造が単純な股関節を対象として関節疾患モデルを実証するが、他の対象部位の医用画像を用いれば膝、肩、脊柱などの関節への応用性も十分に考えられる。

研究成果の概要(英文)：The mechanism of joint disease caused by changes in the mechanical properties of cartilage will be substantiated using a mechanical model of cartilage based on microstructure. Useful measured data in the cartilage tissue, which is the input data of the mechanical model, was measured using dynamic X-ray phase-contrast CT. Local softening due to cartilage degeneration was evaluated by investigating the effect of a decrease in the elastic modulus of the surface layer. The hip joint model was reproduced from the medical CT image, but only one layer could be reproduced for the cartilage layer due to the limitation of the element division algorithm. Reproduction of subchondral bone and bone using an original articular cartilage model became an issue.

研究分野：生体工学

キーワード：関節軟骨 局所変形 有限要素解析 力学特性 軟骨軟化 軟骨下骨硬化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会における健康寿命の延伸を阻害する最大の阻害要因は運動器の障害（ロコモティブシンドローム、略称ロコモ）である。運動器である骨・軟骨の不可逆な病変を惹起する関節疾患は、高齢化に伴う患者数（130万人以上）の増加が危惧されるため、早期発見および予防策の実現は急務である。従来の X 線診断では骨の変形や硬化などの病変に基づいており、この方法では早期発見が難しい。骨の構造はひずみ（荷重による物体の形状や体積の変化）との相関が強く、この力学的な環境の変化に応じて萎縮・肥大化することが注目されてきた。骨に伝わる機械的負荷は、軟骨の力学的な役割により調節されるため、軟骨の変化を調べることが重要である。特に変形性関節症では骨よりも先に軟骨の病変が発現するとされるが、軟骨力学特性が変化する段階はこれまで無症候とされてきたため、軟骨病変と骨病変との因果関係に関する研究はきわめて不十分である。正常軟骨の構造は、微視的にみるとコラーゲン線維配向や細胞形状が軟骨深さに依存して異なる組織学的特徴をもつ。軟骨変性は軟骨の組織組成や構造の異常を誘発する。軟骨力学特性は組織学的特徴の影響を受けるため、その特性変化を定量化するには微細構造の考慮が必要不可欠である。しかし、従来研究では骨強度の評価に一定成果をあげている関節実形状を再現した数値解析では軟骨を均一材料と仮定されてきており、本件のように不均質なものと仮定して内部の特性変化はもちろん軟骨力学特性に着目して発症起源の特定を試みた研究は国内外問わずほとんどない。

### 2. 研究の目的

本研究は大型放射光施設（SPring-8）による軟骨高解像度データを入力した“微細構造に基づく軟骨力学モデル”を用い、より詳細な関節の数値解析システムを構築する。そして、骨力学環境への影響を定量化し、軟骨の力学特性変化に起因する関節疾患の発症・進展メカニズムの解明を目的とする。

### 3. 研究の方法

骨病変がほとんどない病期において関節疾患を発症・進展させるトリガーは、軟骨力学特性の変化であるとの仮説を立てた。軟骨力学特性変化に起因する関節疾患の発症・進展メカニズムを立証するために、軟骨変性の影響を詳細に解析できる“微細構造に基づく軟骨力学モデル”を用いて応力解析を実行した。

#### (1) 大型放射光施設（SPring-8）による軟骨密度分布と局所変形の実測データ取得

“微細構造に基づく軟骨力学モデル”の入力データとして、X 線位相差ダイナミック CT を応用し、繰り返し圧縮による変形を受けるブタ関節軟骨組織内の動的局所変形に対する有用な実測データを蓄積した。軟骨内部の詳細な密度分布は、タルボ干渉計を用いた放射光位相差 CT システムを用いて計測した。実験は、SPring-8 の BL20B2 の第 1 実験ハッチで行った。位相差 X 線 CT を行うために、回折格子を用いたタルボ干渉計を用いた。タルボ干渉計を用いた撮像システムは、光学系上流部から試験片、位相格子 G1、吸収格子 G2、X 線画像検出器の順番で並んでいる。X 線エネルギーは 20keV とする。G2 の走査による微分位相像取得のためのフリンジスキャンステップ数は 5 ステップとした。撮像視野サイズは、9.0mm(H) × 5.5mm(V)、画素サイズは 4.4 $\mu$ m である。試験片は、食用ブタ膝関節軟骨を、表層から軟骨下骨まで円柱状（直径 4mm、厚み 2-3mm）に成型した。生理食塩水中にて、ブタ膝関節軟骨試験片を上下圧子で挟んだ非拘束圧縮を行った。荷重は、下面を固定して上面から繰り返し圧縮を加えた。2018A 課題による先行研究で見られたアクリル製圧子と試験片との著しい密度差が原因のアーチファクトを軽減するため、ポリプロピレン製圧子を用いた。2019A 期では、粘弾性を有する関節軟骨のひずみ速度依存性を調べるために、静的圧縮（最大ひずみ 10%）と、繰り返し圧縮を与える動的圧縮（ひずみ振幅：10%、周波数：0.4Hz と 0.8Hz と 1.0Hz、荷重 除荷後に休止する断続的な三角波）を行った。粘弾性試験における周期的圧縮としては正弦波が典型的であるが、位相差 X 線 CT 撮像のタイミングを調整するためのトリガー制御が容易な三角波を採用した。撮像は荷重ピークが平衡状態となるに十分な時間を設けてから実行した。

また、関節軟骨は本来、組織が連続的に繋がっており横断面に沿った側方変形を制限している。生体の関節では、軟骨表面全面に圧縮が作用するのではなく、一部の接触面に負荷される。これまで実施した非拘束圧縮に比べ、2020A 期（新型コロナウイルス感染症のため実験実施が遅延）導入した押し込み試験は軟骨の関節表面の一部を試験片直径よりも小径の圧子で押し込むため、圧子近傍の組織の連続性を保った非破壊な変形挙動の観察を可能とした。押し込みによる応力緩和試験の経験[大澤ら、生体医工学 2009]から押し込み圧子径は圧子の圧痕がつかない 1mm とし、押し込み量を 100 $\mu$ m、試験片直径は圧子径よりも大きい 4mm とした。動的圧縮試験では、プレ荷重として 0.5-1.0N を与えて緩和させた後、周期的な圧縮を与えた。

密度分布は、X 線位相差 CT で再構成された位相シフト量に基づいて算出した。

## (2) “微細構造に基づく軟骨力学モデル”に用いる軟骨密度分布

独自に考案した“微細構造に基づく軟骨力学モデル”では、関節軟骨は非圧縮性の液相と線形粘弾性体とした固相の二相からなる複合体とした。すなわち、組織の総応力は固相と液相の応力の和で与えられ、軟骨の粘性挙動は組織透水率に依存した間質液の流動抵抗の変化としてモデル化した。組織の透水率はひずみ依存性を示すことから、固相マトリックスの膨張の指数関数で表した非線形性透水率が用いられる。固体マトリックスはコラーゲン線維ネットワークと軟骨細胞、PGマトリックスからなる。本モデルではPGマトリックスと軟骨細胞は線形弾性体、コラーゲン線維は粘弾性体とし、一般 Maxwell モデルとしてモデル化した。軟骨微細構造の異方性の扱いとして、固体マトリックスは等方な PG 基質マトリックスと軟骨細胞やコラーゲン線維といった Eshelby 理論に基づく回転楕円介在物で構成される、深さに依存した横等方性を仮定した。軟骨細胞は軟骨深さに依存して変化するアスペクト比をもつ回転楕円介在物として表現する。また、コラーゲン線維は直線的な線維介在物(アスペクト比無限大とした回転楕円介在物)とし、正規確率密度分布関数により深さ方向に依存して異なる線維配向を示す。コラーゲン線維の体積分率は実測データによる密度分布を参考に深さ依存性を考慮した。これにより、本モデルは二相、粘弾性、微細構造に依存した組織の異方性と不均質性をもつ力学挙動を表現できる。本モデルの有限要素定式化は Galerkin の重み付残差法によって実行した。

## (3) 軟骨変性の影響解析

軟骨の局所的な軟化として、表層の弾性係数の低下による影響を評価した。表層の弾性係数を低下させるため、“微細構造に基づく軟骨力学モデル”における、コラーゲン線維の異方性と不均質性について検討した。コラーゲン線維の異方性では、表層のコラーゲンネットワークの網目が繰り返される負荷や摩擦の影響でつぶれて表面と平行に配向する層が厚くなり、圧縮方向と垂直な方向の弾性係数が低下すると想定した。一方、コラーゲン線維の不均質性では、軟骨変性して線維分解されると体積分率が低下し、弾性係数も低下すると仮定した。図 1 に X 線位相差 CT で得た密度分布を参考に設定した固相内におけるコラーゲン線維の体積分率分布を示す。軟化の影響を受ける設定範囲として正常な軟骨の密度分布を参考に、正常時における表層の 2 倍の深さまでとし、表層の値から 0.05 下げて設定した。解析は押し込み試験を想定し、押し込み量 20%ひずみ、押し込み時間 180sec の応力緩和試験を設定した。

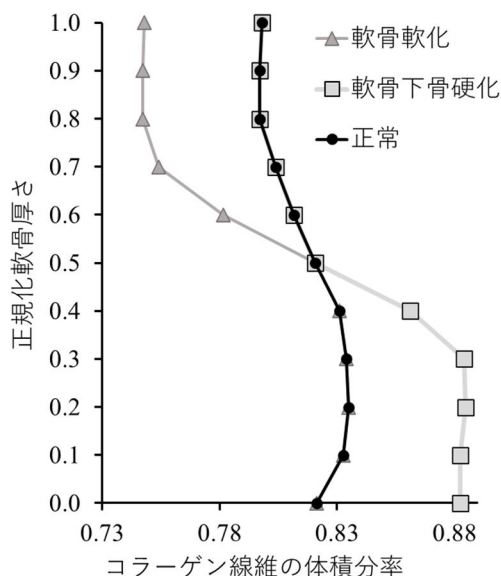


図1 コラーゲン線維の体積分率 (正規化軟骨厚さ=0.0は骨側, 1.0は関節表面)

## (4) 軟骨下骨変性の影響解析

軟骨下骨にまで変性(微小骨折による脆弱化または骨硬化)が進行すると更なる骨硬化や骨変形を誘発する可能性がある。軟骨下骨にまで変性が進行したと仮定し、軟骨下骨の弾性係数の変化が軟骨または骨への負荷増大に作用していることを確かめた。医用 CT 画像から骨領域を抽出し、大腿骨頭形状を再現した股関節モデルを作成した。軟骨層は、大腿骨外形をオフセットして軟骨層を作成した。CT 画像の骨密度に基づく骨強度評価を可能とする有限要素解析を実行し、股関節表面に軟骨層を模した有限要素解析を実行した。また、“微細構造に基づく軟骨力学モデル”を用いた解析では、コラーゲン線維の体積分率を深層の値から 0.05 上げて設定した。

## 4. 研究成果

非拘束圧縮の結果では、ポリプロピレン製圧子を用いた結果、試料-圧子境界面のアーチファクトはほとんど見られなかった。したがって、2018A 期実験ではアーチファクトの影響で評価不可能であった軟骨表層の局所変形を実測できるようになった。ひずみ速度による影響評価では、当初検討予定であった 1.0Hz の動的圧縮では繰り返し圧縮による変形が除荷時に十分に回復できず、試験片の上下面が圧子から外れた試験片もあった。除荷-休止にかけて十分な組織変形回復期間を設けることで、0.8Hz、0.4Hz では計測は可能であった。0.4Hz では表層の断面画像もクリアに得ることができたが、変形速度の速い 0.8Hz ではモーションアーチファクトが見られた。押し込み試験の結果では、押し込みによる圧子周辺の組織のもり上がりによる変形が確認された。加えて、圧子直下の表面付近の軟骨の密度が僅かに上昇していた。これは組織が圧縮されたことにより、表層のコラーゲン線維構造が押しつぶされ、組織内に貯められていた間質液が移動したことによる密度上昇と考えられる。先端が平面の圧子を用いた動的試験では、押し込んだ面と同じ深さとなる断面において、アーチファクトが見られた。先端が半球状の圧子を用いたところアーチファクトの影響は低減したが、圧子と軟骨表面の接触面積が減るため、計測されたピーク反力値が僅かであった。試験片と上部圧子の接触面が僅かなため、試験片の固定が不十分で

試験片が計測中に移動したのもあったことから、今後は試験片の関節表面と骨側端面の平行度の向上と試験片固定方法の改善が課題である。

密度分布では、表層では密度が低く、中間層で最も高く、深層では密度の低い軟骨細胞などの空間がはっきりと表れていたため中間層よりも下がる傾向が見られた。また、中間層と表層では組織内部の変形挙動を観察する変位マーカーとなる構造の変化を密度分布で取得することができた。詳細な変位場を得るためには、3次元の粒子画像流速測定法などで評価する必要がある。

軟骨軟化の影響解析では、異方性、不均質性の検討とともに表層で設定された弾性係数は低くなり、ピーク反力値や平衡時反力値の低下がみられた。線維配向を表層と2倍の厚さの領域で再表層と同配向設定にした結果よりも、体積分率を低下させた結果の反力値が低下していた。したがって、配向の向きやそのバラツキの影響よりも、組織構造を支えて主な荷重支持を担うコラーゲン線維の量的変化の感度が高いことが示唆された。弾性係数が低いということは、組織が変形しやすく歪みやすいということであるから、表層の軟骨組織の損傷につながる力学的環境の模倣につながると考えられる。

微細構造モデルによる軟骨下骨硬化の影響解析では、ピーク反力値や平衡時反力値のわずかな上昇がみられた。骨密度に基づく骨強度解析では、CT画像から実際の股関節形状を模した大腿骨頭モデルと、その外形をオフセットすることで軟骨層を再現することができた。股関節表面に軟骨層を模した解析を実行したが、軟骨層モデルでは要素分割アルゴリズムの限界から軟骨層は1層しか再現できなかった。独自の関節軟骨モデルによる軟骨下骨そして骨部分の再現が課題となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 河野 周作, 大澤 恭子, 星野 真人, 松本 健志
2. 発表標題 関節軟骨局所変形解析のためのX線位相差ダイナミックCTの開発
3. 学会等名 第59回日本生体医工学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河野 周作, 大澤 恭子, 星野 真人, 松本 健志
2. 発表標題 X線位相差CTに基づいたデジタルボリューム相関による関節軟骨の局所変形解析
3. 学会等名 日本機械学会 中国四国支部 第59期総会・講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takako Osawa, Tatsuhiro Aoki, Tomoya Konishi, Shinji Tatsumi, Masato Hoshino, Takeshi Matsumoto
2. 発表標題 Dynamic 3D imaging of articular cartilage under repetitive compression measured by phase-contrast X-ray CT
3. 学会等名 The 17th International Conference on Biomedical Engineering (ICBME 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	田中 正夫  (Tanaka Masao)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	松本 健志  (Matsumoto Takeshi)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関