

海綿骨欠損内部の骨梁パターン形成と Scaffold を用いた骨再生の生体力学シミュレーション

安達 泰治^{*1}, 坪田 健一[†], 鍋島 弘樹^{*}, 本間 義規^{*}, 富田 佳宏^{*}

^{*}神戸大学 工学部 機械工学科
神戸市灘区六甲台町 1-1

[†]東北大学大学院工学研究科バイオロボティクス専攻
仙台市青葉区荒巻字青葉 01

^{*1}e-mail: adachi@mech.kobe-u.ac.jp

1. はじめに

海綿骨は、発生・成長の過程を経て骨梁構造を形作り、その後、環境の変化に対してその構造を機能的に変化させることが知られている。また、海綿骨に生じた欠損内部においても、骨髄で満たされた空間内に骨梁構造のパターンが再形成される。この海綿骨欠損部の骨梁構造の再形成は、欠損サイズに大きく依存し、小さい場合は、自然に治癒するが、大きい場合は、力学的機能の低下が著しいため、細胞移入と骨形成の足場となる Scaffold を用いた再生手法が期待されている。

ここでは、海綿骨の再生過程の数理モデル化とその生体力学シミュレーションについて検討した例として、まず、欠損内部における骨梁パターン形成シミュレーションについて述べる。次に、ポーラス Scaffold を用いた骨再生シミュレーションについて述べる。

2. 海綿骨欠損部内の骨梁形態形成シミュレーション

骨は、発生、成長、再構築、再生、いずれの過程においても周囲の力学環境の影響のもと、適応的に形態や特性を変化させることが知られている⁽¹⁾。例えば、海綿骨においては、Wolff の仮説⁽²⁾に代表されるように、海綿骨の骨梁構造が、周囲の力学環境に適応した形態を有していることが知られている。骨組織の再構築過程については、様々な数理モデルの提案がなされ、計算機シミュレーションによる検討が進められてきた。しかしながら、発生や成長、再生過程については、工学的、医学的に関心が高いにもかかわらず、そのメカニズムについて数理的に検討した例は数少ない。

本研究では、海綿骨欠損部内における骨梁構造の再生過程に着目した。骨組織の形成における、生化学的側面と力学的側面を関連付けるため、生物の形態形成やパターン形成において有効性が示されている反応拡散系モデル⁽³⁾ に対して、力学因子による骨形成、骨吸収の促進を考慮したモデル^(4, 5) を組み合わせ、骨梁のパターン形成モデルを提案した。さらに、骨梁形態形成の計算機シミュレーションを行い、本研究で提案するモデルの有効性について検討した。

2.1 モデルと解析手法

2.1.1 骨梁パターン形成モデル 海綿骨欠損部における骨梁形態形成モデルとして、骨組織の再生過程に関わる細胞の生化学反応や細胞群の物質交換等の代謝活動を単純化して考える。これを、骨形成を促す活性因子 u (骨形成因子) と骨形成を抑制し骨吸収を促す抑制因子 v (骨吸収因子) による 2 変数のフィードバックシステムと、その拡散により構成された反応拡散系モデルにより表現する。さらに骨梁の局所における応力のスカラー値 σ を $F(\sigma)$, $R(\sigma)$ 項として導入し、反応拡散系の u および v の時間発展式にそれぞれ付加することで、力学因子による骨形成、骨吸収の促進を考慮するモデルを

$$\partial u / \partial t = f(u, v) + D_u \nabla^2 u + F(\sigma) \quad (1)$$

$$\partial v / \partial t = g(u, v) + D_v \nabla^2 v + R(\sigma) \quad (2)$$

と表す。その際、骨梁の形態形成には、負荷に対して、形成を促す感知閾値 σ_1 と、吸収を促す感知閾値 σ_2 が存在するものと仮定し、Fig. 1 に示すように、応力 σ と $F(\sigma)$, $R(\sigma)$ を関連付ける。定数 D_u , 及び D_v は拡散係数を表す。

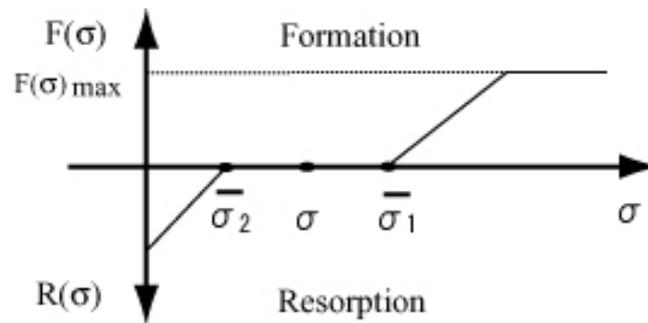


Fig. 1: Relation between stress and $F(\sigma)$, $R(\sigma)$

2.1.2 シミュレーションモデル シミュレーション領域は、Fig.2(a) に示すように、一辺 2.5 mm の立方体とし、全体を辺長 $50 \mu\text{m}$ の voxel 要素 ($50 \times 50 \times 50$) で分割した。シミュレーション領域の中央に、直径、および高さがそれぞれ 2.3 mm の円柱を配置し、その内部の要素を骨欠損部領域とし、骨梁形態形成シミュレーションを行った。また、骨欠損部の周囲に、海綿骨を想定した要素を配置した。骨組織は、線形弾性体であると仮定し、ヤング率 E , およびポアソン比 ν は、石灰化の完了した骨を $E_m = 20 \text{ GPa}$, $\nu_m = 0.3$, 石灰化過程の骨を $0 < E < E_m$, $\nu = 0.3$ とした。また、海綿骨要素は、 $E_c = 2.0 \text{ GPa}$, $\nu_c = 0.3$ とした。境界条件は、Fig.2(b) に示すように、シミュレーション領域の表面に巨視的応力に対応した垂直及びせん断応力を与えるものとし、主応力 σ_1 , σ_2 , σ_3 はそれぞれ -1.0 , -0.1 , -2.0 MPa の圧縮応力とした。また、 x_1-x_3 平面の主応力方向 θ が 0° と 30° の場合を検討した。

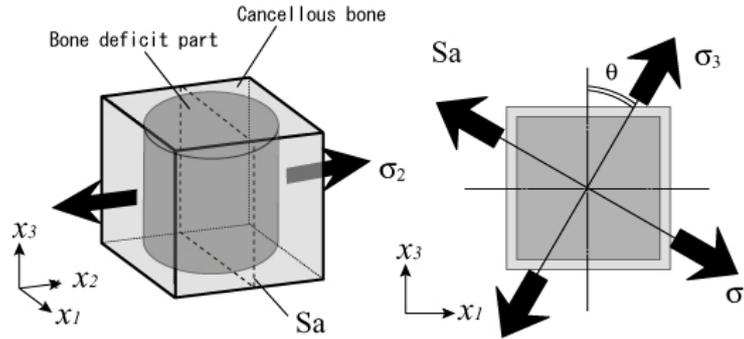


Fig. 2: Boundary condition for trabecular bone

2.1.3 解析手法 初期条件として、骨髄を想定した低濃度の骨形成因子を骨欠損部領域内に与えた。まず、式(1)および(2)に示す骨梁パターン形成モデルの差分解析を行い、時間 t における $u(t)$ と $v(t)$ を求める。ここで、 v は u に追従するため、形成されるパターンは u 及び v のどちらの濃度分布を見ても同様な傾向を示す。そこで、ここでは、 u に注目し、このシミュレーションで十分計算時間が経過した時の u_{\max} との比を取ることで、密度 $\rho(t) = u(t)/u_{\max}$ ($0 < \rho(t) < 1$) を定義する。次に、得られた密度分布を骨の見かけ密度と考え、その値に応じた骨組織を離散的に表現し voxel 要素に対応させる。この時、各要素のヤング率は、密度 ρ のべき乗則を用いて、 $E = E_m \rho^3$ とする⁽⁶⁾。これを用いて、有限要素法による応力解析を行うことで応力のスカラ関数 σ を求め、 $F(\sigma)$ 、 $R(\sigma)$ を求める。これらを再び骨梁パターン形成モデルに導入して新しい u を得る。このシミュレーション過程を繰り返すことにより得られる密度のパターン形成をもとに、骨梁の形態形成過程を表現する。

2.2 結果と考察

まず、密度 ρ の分布を Fig.3 に示す。シミュレーション初期において、密度の濃い部分と薄い部分ができ、海綿骨様のパターンが形成された。そのパターンから、徐々に密度の高い部位 ($\rho > 0.6$) が形成されていく過程が確認できた。次に、この密度の高い部分を骨梁と考え、 $\rho = 0.6$ の等値数面を Fig.4 示す。新生骨が欠損部領域の各部位から現れ、それが徐々に大きく成長し、骨梁構造のパターンが形成される様子が確認される。

シミュレーション初期においては、骨形成因子 u が低濃度であるため、密度とヤング率が低く、骨梁形態形成モデルにおける力学因子の影響が小さいため、主に反応拡散系モデルによってパターンが形成される。その後、それを足場として応力が増加し、骨形成、吸収モデルの影響によって、骨形成が促進されたと考えられる。骨梁は最大主応力 σ_3 の方向に成長し太くなったが、主応力 σ_1 方向の骨梁は減少し、枝分かれした形態を持つ骨梁が得られた。また、応力主軸方向の回転に伴い、その方向に骨梁が太く成長することが観察された。これは垂直応力分布の絶対値に応じた骨梁が形成されているためと考えられる。主応力方向の垂直応力に対し、連続性の良い骨梁が有効に荷重を支持し、この部分での応力値の増加により、骨形成が促される。逆に応力値の減少した部分では骨吸収が促されるため、骨梁が最大主応力方向に対して相対的に太くなったと考えられる。

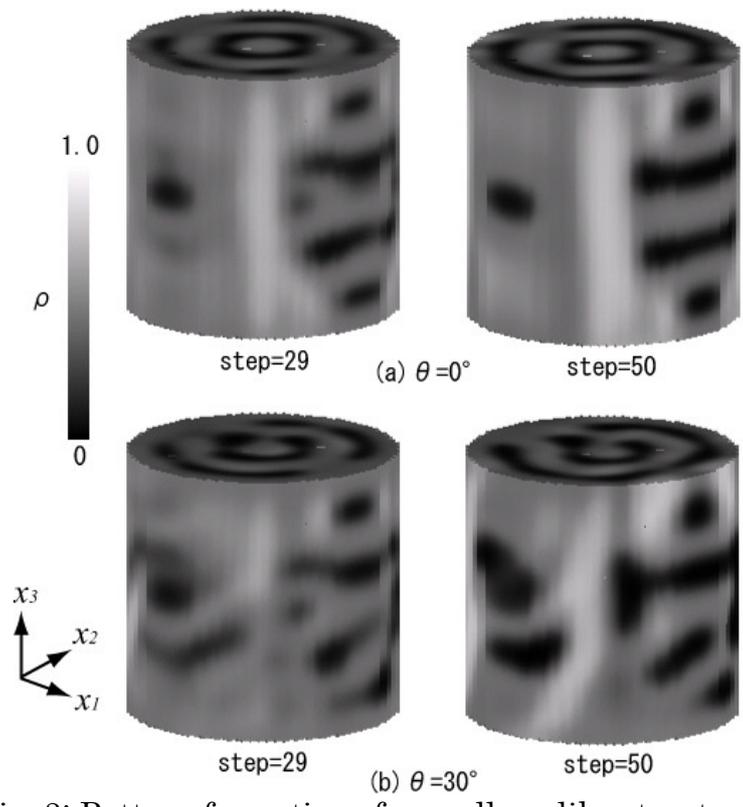


Fig. 3: Pattern formation of cancellous-like structure

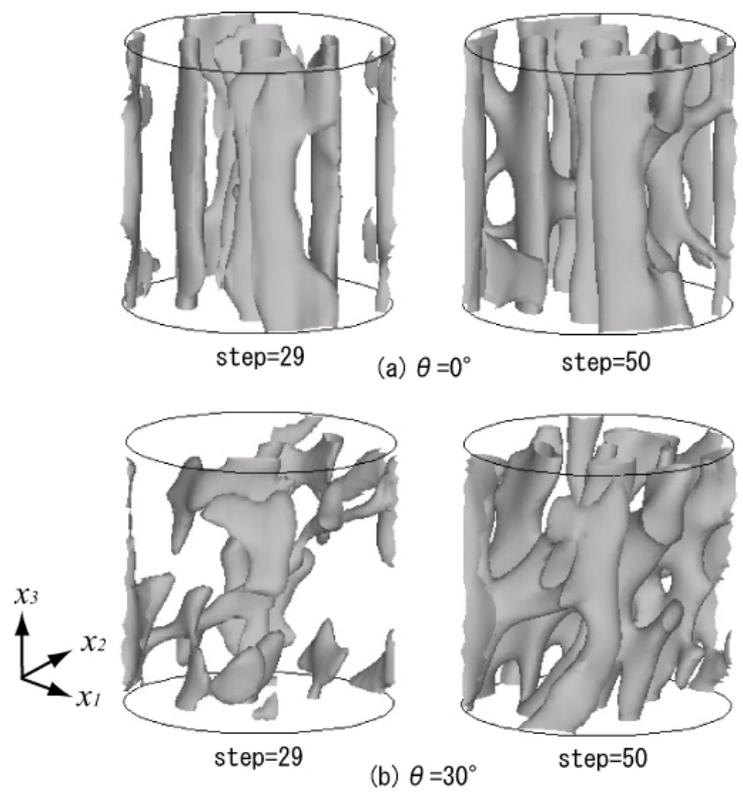


Fig. 4: Formation of trabecular bone

3. Scaffold を用いた骨再生シミュレーション

骨の損傷・欠損に対して、その組織再生と機能回復を支援する手法の一つとして、骨欠損部への Scaffold の挿入が挙げられる⁽⁷⁾。この Scaffold を設計⁽⁸⁾する際、その外形状は骨欠損部位によりほぼ決定されるが、内部構造は再生過程そのものに大きく影響を与えるため、最適な設計が望まれる。しかしながら、生体内で生じる骨再生現象は非常に複雑なものであるため、実験的手法に加えて、計算機シミュレーションの援用が不可欠である⁽⁹⁾。本研究では、骨の形成および Scaffold の劣化・吸収を力学的因子と関連付けてモデル化し、これを海綿骨欠損部における骨再生に適用する。ここでは、Scaffold の内部構造を特徴付けるポーラス空孔径および中心間距離に着目し、これらの設計変数が再生される骨梁構造に与える影響を骨梁特徴量を用いて評価する。

3.1 骨組織再生モデル

3.1.1 骨形成モデル 微視的な力学刺激に応じて生じる骨リモデリングを、表面応力一様化則⁽¹⁰⁾を用いてモデル化し、これにより、骨の形成を再現する。このとき、新生骨の形成は骨梁表面および Scaffold 表面において生じるものと仮定する。骨および Scaffold 表面上のある点において、その点における応力を σ_c 、半径 l 内における近傍の応力の代表値を σ_d とすることで、表面上の微視領域での応力の不均一性を $\Gamma = \ln [\sigma_c / \sigma_d]$ で表し、これを骨形成・吸収の駆動力とした。その際、骨および Scaffold 表面における骨の表面移動速度 \dot{m} 、 $\Gamma > 0$ の時 $\dot{m} > 0$ 、 $\Gamma < 0$ の時 $\dot{m} < 0$ とした。さらに、新生骨の石灰化過程を表現するため、骨のヤング率 E_b を時間 t の単調増加関数とすることで、その成熟過程を力学特性の変化として表した。

3.1.2 Scaffold の劣化・吸収モデル 生分解性ポリマーから形作られる Scaffold の劣化は、周囲の骨髄から水分が浸透し加水分解することにより生じる⁽¹¹⁾。その結果、分子量が低下し、十分に劣化した後、生体内で吸収される。この Scaffold の生分解挙動を形態および力学特性の変化として記述する。Scaffold の力学特性 E_s を分子量 W の関数とし $E_s = E_s(W)$ とする。また、含水率 c ($0 < c < 1$) の関数として表される Scaffold の分子量 W の減少速度は、 c の一次式を用いて $W = -\beta c$ と表す。ここで、 $\beta (> 0)$ は分子量の減少速度を決める定数とした。また、水分の浸透を拡散によるものと考え、 c の時間変化は、拡散方程式 $c = \alpha \Delta c$ を用いて表す。ここで、 $\alpha (> 0)$ は拡散係数を表す。

3.2 シミュレーションモデル

海綿骨欠損部への Scaffold の挿入を想定したモデルを Fig.5 に示すように作成した。一辺が 9.0 mm の正方領域を一辺が 60 μm の voxel 要素を用いて、 150×150 に分割した。この領域内に、骨梁表面リモデリングシミュレーション⁽⁴⁾により得られた海綿骨形態を作成し、その中央に一辺が 4.3 mm の Scaffold を挿入した。海綿骨および Scaffold は等方線形弾性体と仮定し、ヤング率 E 、およびポアソン比 ν は、それぞれ、海綿骨部 $E_b = 20 \text{ GPa}$ 、 $\nu_b = 0.3$ 、Scaffold 部 $E_s = 20 \text{ GPa}$ 、 $\nu_s = 0.3$ とした。また、海綿骨の周囲には、海綿骨要素に対してヤング率が 1/10 であり、ポアソン比が 0.3 の要素を 5 要素分の厚みに配置した。境界条件は、海綿骨全体の巨視的な力学環境を想定するものとし、平面ひずみ条件下で $\sigma_1 = -1.0 \text{ MPa}$ 、 $\sigma_2 = -2.0 \text{ MPa}$ の主応力を与えた。Scaffold

の内部構造はポアラスの空孔径 D および中心間距離 L を設計変数とし、 D を $240 \mu\text{m}$ から $720 \mu\text{m}$ まで $60 \mu\text{m}$ ごとに 5 通り、 L を $480 \mu\text{m}$ 、 $720 \mu\text{m}$ 、 $1080 \mu\text{m}$ の 3 通りとし、その内 $D > L$ となる場合を除く計 11 通りを用意した。これらの内部構造を初期構造とし、骨欠損部への Scaffold の挿入を想定した骨再生シミュレーションを行った。

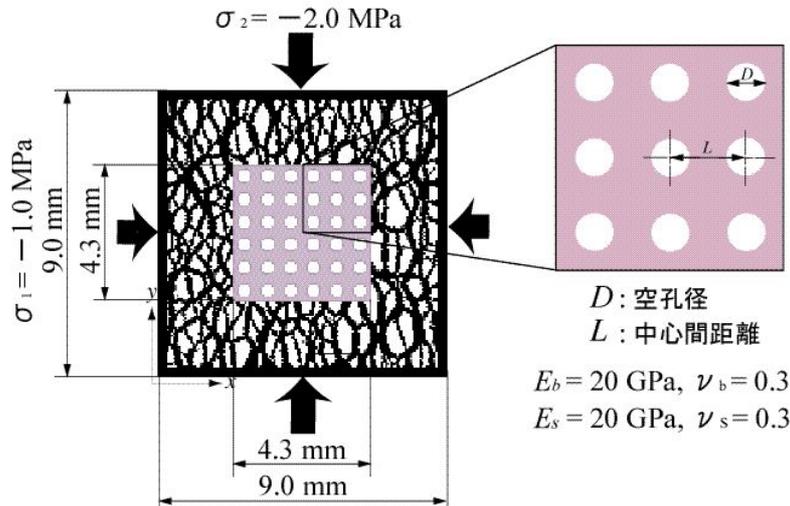


Fig.5: Computational model of porous scaffold embedded in cancellous bone

3.3 シミュレーション結果

3.3.1 海綿骨および Scaffold の形態変化 Scaffold の初期体積分率 $SVF \approx 0.80$ となる内部構造を有する 3 通りの場合を CaseA~CaseC とし、これらの海綿骨および Scaffold の形態変化をそれぞれ Fig.6(a)~(c)に示す。また、Fig.7(a), (b)には、このときの海綿骨欠損領域(4.32 mm×4.32 mm)部における骨の体積分率 BVF および全骨梁面 TTS を示す。ここで、全骨梁面とは骨梁表面長さのことを表す。

Fig.7 に示すように、 BVF および TTS は、いずれの場合においても初期は単調に増加しているが、CaseA においては、 TTS が 30 days 付近より急激に減少している。これは、CaseA の Scaffold の分解速度が速いため、Fig.6(a)に示すように骨梁間の連結がなされる前に足場となる Scaffold が消失したことを示している。CaseB, C においては、Fig.6(b), (c)の 30 days に示すように、劣化は進んでいるものの、その形状は維持されており、骨の形成が Scaffold 内部の空孔表面から生じていることがわかる。その際、骨の形成は、最大圧縮主応力方向である σ_2 方向に顕著に現れた。

その後、CaseB, C においては、Scaffold の劣化・吸収に伴い BVF および TTS は増加し、150 days では Scaffold は完全に劣化・吸収され、Scaffold 挿入部位に骨梁構造が形成されることにより、骨再生が完了したと考えられる。このとき、 σ_2 方向に太く成長した骨により、荷重支持がなされ、CaseC においては CaseB に比べて BVF が大きく、骨形成量が多いことがわかる。CaseA においては、骨再生がなされず Scaffold 挿入部位を取り巻くような骨梁構造が形成されている。

このように、Scaffold の初期体積分率が同じ場合でもその内部構造が、骨再生過程に影響を及ぼし、再生される骨の形態に特徴的な差異が認められることが確認できた。

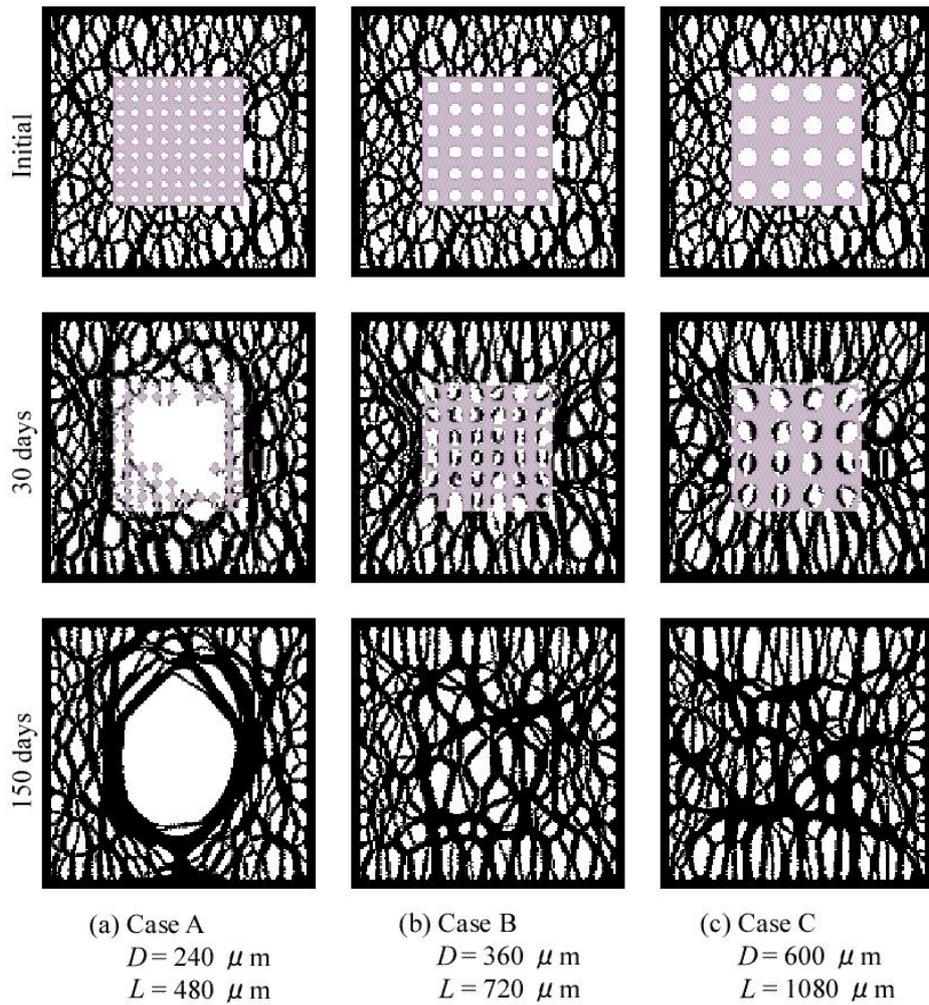


Fig.6: Bone regeneration in cancellous bone (initial $SVF^c=0.80$, $BVF=0.58$)

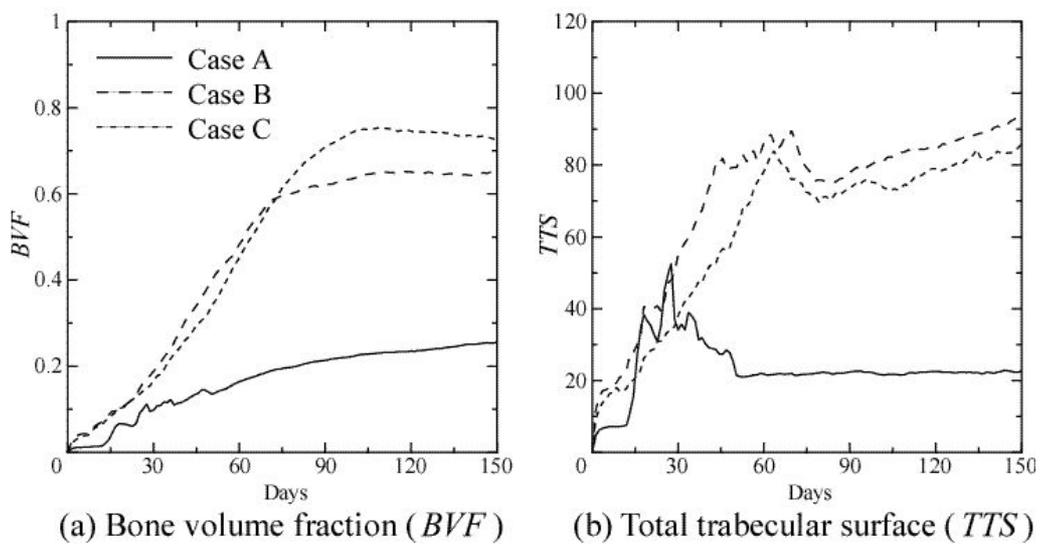


Fig.7: Change in structural indices of regenerated bone in defect (scaffold) region

3.3.2 再生された海綿骨の欠損前との比較 Scaffold 挿入から 150 days における海綿骨欠損部の *BVF* および *TTS* と Scaffold 初期空孔径 *D* の関係を Fig.8(a), (b)に示す. 同図中, 欠損前の海綿骨の *BVF* および *TTS* を破線で示す. Fig.8(a)に示すように, *BVF* は, 空孔中心間距離 *L* を一定とした場合, 空孔径 *D* が大きくなると減少する傾向があることがわかる. また, $(D, L) = (360 \mu\text{m}, 720 \mu\text{m})$ の場合 $BVF = 0.65$, $(D, L) = (720, 1080)$ の場合 $BVF = 0.66$ となり, この 2 通りの内部構造を有する Scaffold を用いた場合が, 欠損前の $BVF = 0.58$ により近い値を示している. 従って, 骨形成量から考えると, これらの Scaffold は他の場合に比べて, 骨形成速度に適した分解速度を有しているといえる.

次に, Fig.8(b)に示すように, *TTS* は, *D* が大きくなると, 一度は増加しているが, $D = 480 \mu\text{m}$ 以降は減少の傾向にある. また, $(D, L) = (360, 720)$ の場合 $TTS = 94 \text{ mm}$, $(D, L) = (480, 720)$ の場合 $TTS = 94 \text{ mm}$ となり, この 2 通りの内部構造を有する Scaffold を用いた場合が, 欠損前の $TTS = 144 \text{ mm}$ により近い値を示している. 従って, これらの Scaffold を用いた場合, 他の場合より骨梁間の連結が顕著になされ, より応力が分散されるような荷重支持形態となっていることを示している.

特に, $L = 480 \mu\text{m}$ の場合においては, 欠損領域内に十分な骨が再生されず, *BVF* および *TTS* ともに低い値を示している. これは, $L = 480 \mu\text{m}$ の場合, 空孔の数が多いため水分の浸透が早く, 骨梁間の連結がなされる前に Scaffold が劣化・吸収されてしまうことに起因する.

以上の結果から, $(D, L) = (360 \mu\text{m}, 720 \mu\text{m})$ の Scaffold を用いて再生された骨梁構造が, *BVF* および *TTS* ともに最も欠損前のものに近いことがわかる. これより, 内部構造寸法 *D*, *L* を設計変数とした場合, その骨欠損部に最も適した寸法が存在し得ることが示唆された.

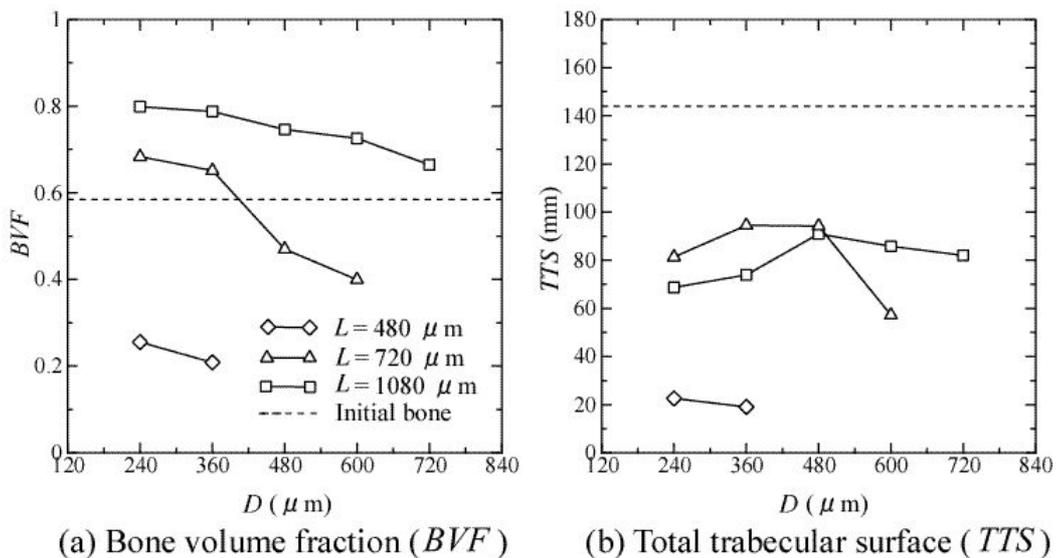


Fig.8: Structural indices of regenerated bone in defect region at 150 days

4. おわりに

本研究では、まず、骨組織の再生過程に関わっている細胞の生化学反応や細胞群の物質交換等の代謝活動を、反応拡散系により表現し、力学因子による骨形成、骨吸収の促進を導入することで、海綿骨欠損部領域での骨梁形態形成シミュレーションを行った。その結果、薄い海綿骨様のパターンが形成され、石灰化に伴い、骨梁形態が形成される過程が示された。最大主応力方向への骨梁の配向などの形態的特徴が、荷重の垂直応力分布に起因することから、本結果における骨梁構造が、力学的機能を有した構造であることが示された。これにより、骨欠損部の骨梁形成過程を考える上で、本モデルが有効な手法となり得るものと考えられる。今後の課題として、欠損内部だけでなく、周辺の骨組織を含めたシミュレーション領域を考慮し、骨の発生、成長、再構築、再生を含めた数理モデルへの発展を目指す。

次に、海綿骨欠損部への Scaffold 挿入時における骨再生をシミュレートした。その際、Scaffold の内部構造、特にポラス空孔径および中心間距離に着目し、それらの設計変数が再生される骨梁構造に与える影響を骨梁特徴量を用いて評価した。その結果、Scaffold の内部構造寸法が異なると、骨再生過程における骨形成および Scaffold の劣化・吸収に影響を及ぼし、再生される骨梁構造に差異が生じることが示された。これより、Scaffold の最適な設計を目指す上では、内部構造を考慮することが重要であり、ポラス空孔径および中心間距離が設計変数となり得ることが示唆された。また、Scaffold には骨再生が完了するまでの間、損傷部位の力学機能を代替する役割があるため、今後は Scaffold の剛性あるいは強度なども考慮にいて、最適な設計手法を検討する必要がある。

参考文献

- (1) Taber, L. A., *Biomechanics of Growth, Remodeling, and Morphogenesis*, Applied Mechanics Review, 48-8 (1995), 487-545.
- (2) Wolff, J., *The Law of Bone Remodeling*, (Trans. P. Maquet and R. Furlong), Springer (1986).
- (3) Kondo, S., *A Reaction-Diffusion Wave on the Skin of the Marine Angelfish Pomacanthus*, Nature, 376-6543 (1995), 765-768.
- (4) 手塚建一, 反応拡散系による負荷適応骨リモデリングモデル, 日本機械学会第 15 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集, 02-35 (2003), 73-74.
- (5) 安達泰治, 木村秀人, 富田桂宏, 反応拡散系による海綿骨の三次元骨梁パターン形成シミュレーション, 日本機械学会 2003 年度年次大会講演論文集, 7 (2003), 153-154.
- (6) Carter, D. R., *The Compressive Behavior of Bone as a Two-Phase Porous Structure*, Journal of Bone and Joint Surgery, 59A (1977), 954-962.
- (7) Whang, K. et al., *Tissue Engineering*, 5-1 (1999), 35-51.
- (8) Hollister, S. J., et al., *Oral Maxillofacial Surgery*, 29 (2000), 67-71.
- (9) 河野雄二, 安達泰治, 富田佳宏, 日本機械学会第 14 回バイオエンジニアリング講演会, 02-04 (2002), 307-308.
- (10) 安達泰治, 富田佳宏, 坂上拓, 田中正夫, 機論, 63C-607 (1997), 777-784.
- (11) Hutmacher, D. W., *Biomaterials*, 21 (2000), 2529-2543.