

## T2緩和差を利用した<sup>31</sup>P-NMRによる 骨塩量・新生骨量測定法

齋藤 安奈

松本歯科大学 大学院歯学独立研究科 硬組織疾患制御再建学講座  
(主指導教員：各務 秀明 教授)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科博士（歯学）学位申請論文

A method of measurement for bone mineral density and  
newly formed bone quantity using <sup>31</sup>P-NMR T2 relaxation time

ANNA SAITO

*Development and Engineering for Hard Tissue, Graduate School of Oral Medicine,  
Matsumoto Dental University  
(Chief Academic Advisor : Professor Hideaki Kagami)*

The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,  
Matsumoto Dental University, for the degree Ph. D. (in Dentistry)

### 【緒言】

歯槽骨の骨再生治療において、術前に新生骨量や骨質を知ることができれば、適切なインプラント埋入時期の決定に役立つ。また、骨組成や骨塩量の非侵襲的な解析は、系統的骨疾患の診断や研究にも有用である。再生骨に対しては、現在エックス線単純撮影やCTを用いた検査が行われているが、これらの方法では人工骨と新生骨とを見分けることは困難である。また、骨塩量や骨の組成に関しても、非侵襲的で短時間、かつ正確に測定する方法は限られている。これまでの研究で<sup>31</sup>P-NMRを用いて、骨リン酸カルシウムのT1緩和差を利用した海綿骨部の新生骨量測定法を確立したが、成熟骨と新生骨の割合を得るには二重エネルギーエックス線吸収測定（DXA）法などの骨塩量測定法を併用する欠点があった。また、<sup>31</sup>P-NMRのみを用いてT1緩和差を利用した骨塩量

測定を行う場合には、測定が長時間となり実用性に欠けることが推測された。そこで、本研究ではT2緩和時間がT1緩和時間よりも短いことに注目した。T2緩和差を利用することで、<sup>31</sup>P-NMRのみで新生骨信号量（新生骨量）、骨塩信号量（骨塩量）を測定する非侵襲的な短時間<sup>31</sup>P-NMR二重測定法の確立を目的とした。

### 【方法】

<sup>31</sup>P-NMRによるT2緩和時間の測定条件の探索のため、各種合成リン酸カルシウムのT2磁気緩和動態をCarr Purcell Meiboom Gil (CPMG)法で測定した。Calculation delay, Relaxation delay, 積算回数を変数として、それぞれについて最適化を行った。各種合成リン酸カルシウムを骨構成体と考えられているもの、骨リン酸カルシウムの前駆体と考えられているもの、そして人工骨補填剤などの生体硬組織移植材料に含まれる成

分の3つに分類し、計11種類を使用した。合成リン酸カルシウムでの基礎検討の結果から、骨塩量、新生骨量の測定条件候補の決定をした。続いて、得られた測定条件候補値を利用し、マウス脛骨を用いた検討を行った。実験には2、4、6、9ヶ月齢の雄BALB/cAJclマウスを各々5匹、合計20匹を用いた。<sup>31</sup>P-NMR、CPMG法によるT2信号量の測定を行い、さらに同一サンプルについて、DXA装置による骨塩量の測定を行った。また、テトラサイクリン、カルセインによる骨二重標識(01TC-02-01CL)により組織学的な新生骨量の測定を行い、<sup>31</sup>P-NMR、CPMG法によるT2信号量の測定結果との比較を行った。

#### 【結果】

CPMG法での測定条件のうち、 $\tau$  stepは使用した機器における最小値の182 $\mu$ 秒に設定した。Calculation delayを変数とした場合、特に骨構成体に含まれる材料と生体硬組織移植材料との違いが最も描出されたのが0.348m秒であったため、この値に固定した。次に合成リン酸カルシウムの信号量に及ぼすRelaxation delayと積算回数については、予備実験から候補となる5つの測定条件を決定した。解析の結果、<sup>31</sup>P-NMRの各条件による信号量とDXAによって測定した骨塩量との間には、相関は認められなかった。一方、<sup>31</sup>P-

NMRの各条件による信号量と海綿骨部の新生骨量(面積)との間には、特にRelaxation delay 10秒、積算回数60回において最も強い相関が認められた。

#### 【考察】

組織学的に解析した海綿骨部の新生骨の面積とT2緩和時間では、Relaxation delay 10秒、積算60回(測定約10分)を含む複数の条件下で有意な相関を認めたことから、<sup>31</sup>P-NMRのT2緩和差を利用することで、新生骨量が非侵襲的に測定できる可能性が示唆された。この測定法を将来骨再生医療に用いることができれば、同時に移植された人工骨の影響を排除して、新生骨量のみを測定できる可能性が示された点で画期的と考えられる。また、DXAによって測定した骨塩量とT2緩和時間では相関を認めなかったことから、<sup>31</sup>P-NMRのT2緩和差のみで骨塩量を測定することは困難と考えられた。その理由として、<sup>31</sup>P-NMRでは骨リン酸カルシウムのリンの信号を測定していることから、加齢によって骨リン酸カルシウムの組成の内、カルシウムなどの他のミネラル量が変化することが考えられた。今回の結果から、<sup>31</sup>P-NMRのT2緩和差を利用した解析は、今後非侵襲的な再生骨量や骨組成の検査に有用である可能性が示された。