透過型 X 線回折法による生体アパタイト結晶配向性の新評価法^{*1}

李 志 旭¹ 佐々木勝成² Joseph D. Ferrara²
秋 山 皖 史² 佐々木敏彦³ 中 野 貴 由^{1,*2}

¹大阪大学大学院工学研究科マテリアル生産科学専攻

²株式会社リガク

³金沢大学大学院自然科学研究科システム創成科学専攻

J. Japan Inst. Metals, Vol. 73, No. 10 (2009), pp. 786-793

© 2009 The Japan Institute of Metals

Evaluation of Preferential Alignment of Biological Apatite (BAP) Crystallites in Bone using Transmission X-ray Diffraction Optics

Jee-Wook Lee¹, Katsunari Sasaki², Joseph D. Ferrara²,
Kiyoshi Akiyama², Toshihiko Sasaki³ and Takayoshi Nakano^{1,*2}

¹Division of Materials and Manufacturing Science, Graduate School of Engineering, Osaka University, Suita 565-0871

²Rigaku Corporation, Tokyo 196-8666

³Division of Innovative Technology and Science, Graduate School of Natural Science & Technology, Kanazawa University, Kanazawa 920-1192

Two-dimensional quantitative analysis of point focus X-ray beam diffraction was performed using a transmission optics system to examine the biological apatite (BAP) orientation in the femurs of an osteopetrotic (op/op) mouse and a normal mouse. The Mo K α (wavelength: 0.07107 nm) was used as characteristic X-ray radiation as a substitute for conventional Cu K α (wavelength: 0.15418 nm) radiation. At first a theoretical calculation concerning with X-ray absorption and peak resolution was performed, and subsequently X-ray diffraction measurements were carried out to confirm the usefulness of the transmission X-ray method by Mo K α radiation. The distribution of the preferential orientation of the BAP c-axis was finally measured and calculated as an integrated intensity ratio of (002)/(310) in a plane roughly containing the bone longitudinal axis. The result resembled analysis from a conventional reflection X-ray diffraction method by Cu K α radiation but this transmission optics system was more convenient for the screening of BAP orientation in bones without sectioning.

The distribution of the preferential alignment of the BAP c-axis was measured as a function of the longitudinal axis in the femurs of a 12-week mutant op/op mouse and a littermate control mouse. The preferential alignment of the BAP c-axis along the longitudinal direction is much lower in the op/op mouse than in the control mouse in all analytical positions. The transmission optics system using Mo K α radiation in this study provides a fuss-free method for analyzing BAP orientation as a bone quality parameter.

(Received June 19, 2009; Accepted June 24, 2009)

Keywords: osteopetrotic (op/op), osteopetrosis, biological apatite crystallite, bone quality, X-ray diffraction, transmission method, X-ray absorption, imaging plate

1. 緒 言

X 線回折法(XRD)は材料の微細構造を評価する有効な手段として知られている。回折現象は結晶面での X 線の反射によって発生するため、回折法は、極点図、残留応力、優先配向、結晶性、格子パラメータなど、原子レベルでの材料の結晶学的特性を評価するための主要な方法の一つである。一般に、金属、セラミックス、高分子といった結晶性材料は不規則的もしくは弱く配向した結晶子で構成されている。こ

うした材料に対し、残留応力や優先配向性の付与のような結晶学的特性を改善することで、材料特性の制御もしくは向上を図ることが可能となる。

近年、X 線回折に使用される検出器は著しく進歩し、IP (Imaging Plate), MWPC(Multi Wire Proportional Counter), CCD(Charge Coupled Device)などの二次元検出器が開発されてきた¹⁾。こうした検出器は X 線回折、特に結晶の二次元的な配列の情報を得ることに非常に有効であり、また測定時間を大幅に短縮できることから、材料評価にとって欠かすことのできない検出器となっている²⁾。

一方、骨は臓器の保護や自重を支えるための力学特性を発揮することから生体内での構造材料としての強い側面を持

^{*1} Mater. Trans. **49**(2008) 2129-2135 に掲載

^{*2} Corresponding author, E-mail: nakano@mat.eng.osaka-u.ac.jp

つ、骨組織は有機質としてのコラーゲンと無機質としての生体アパタイト (Biological Apatite: 以下, BAp) からなる緻密な複合体であり, それぞれ骨に対し, しなやかさと強度を与える³⁾。力学機能の発揮以外にも, カルシウム, マグネシウム, 無機リン酸塩イオンなどの貯蔵庫としても働く。骨組織がこうした構造材料として, さらには骨代謝機能に対し重要な役割を發揮するためには, BAp 結晶子は 50 nm 以下の比較的小さなサイズからなることが重要であり, 結晶子のサイズや分布は, 年齢, 健康状態および疾患の有無によって異なってくる⁴⁾。以上から, BAp 結晶子のサイズや微量元素での置換, 配列といった骨微細構造や骨中のミネラル成分を解析することは, 生物学的・医学的にも極めて重要である⁵⁾。

一般に, 骨組織は BAp の存在量に対応する骨密度 (Bone Mineral Density: BMD) により評価される。BMD は骨強度や骨折リスクと深く関っているものの, 骨粗鬆症薬の治療効果を始めとする最近の研究により, 骨の力学機能を予測する因子として, 単独では不十分であることが指摘されている⁶⁾。つまり, 骨量 (bone quantity), BMD 以外に骨力学機能に影響を及ぼす制御因子として, 骨質 (bone quality) の重要性が認識されるようになってきた^{7,8)}。骨質に影響を与える様々な因子の一つとして, BAp の c 軸配向性が挙げられる。BAp は, 六方晶系の異方性の高い結晶構造を示し, その c 軸はコラーゲンの走行方向とほぼ一致する^{9,10)}。例えば, 微小領域 X 線回折法を用いた研究から, BAp の c 軸配向性は, *in vivo* 応力分布に対応し, 骨部位に応じて変化し, 最適な力学特性を發揮するように BAp 結晶子が荷重方向に優先配向していることが示されている¹¹⁾。骨再生過程においては, BAp 配向性は, BMD とは全く独立に変化し, 一致しないことが明らかになっている^{12,13)}。このことは, BMD のみで骨の再生度合いを判断できないことを意味している。

X 線回折法を用いて骨組織を評価する場合, Cu K α 特性 X 線がこれまで一般的に利用されてきた。BAp 結晶に対するこの特性 X 線の吸収係数は非常に大きく, 骨の数 10 μ m オーダー深さの表面における回折情報を得るには極めて有利である¹⁴⁾。しかし, 薬剤効果の検証や遺伝子組み換えによる研究では, 一般にマウスやラットといった小動物を用いることが多く, BAp 配向性の反射法での X 線回折測定には, 解析面を切断, 露出し解析を行う必要がある。この場合, 骨試料が微小なほどハンドリングが困難となり, 小動物骨への配向性診断への汎用化・応用には, 不向きとなる。例えば, マウス的大腿骨の長軸方向に沿って BAp 配向性を評価するためには, 0.1 mm オーダーの皮質骨を含む骨断面を切り出して測定を行わなければならない。その結果, 例えば, 骨長手での各部位における配向性を解析することは, 多大な労力と時間を必要とし, 事実上困難である。

そこで本研究では, Cu K α 特性 X 線に比べて, 波長が短く高エネルギーを示す Mo K α 特性 X 線を用いて, 透過型 X 線回折法を適用することにより, 小動物骨を加工することなく解析することを目指した。特に, マウス大腿骨に適用することで, BAp 結晶の長軸方向を含む c 軸配向性を長軸各部位において連続的に評価することを目的とした。とりわけ透

過型 XRD を用いて, マクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF: Macrophage Colony-Stimulating Factor) を欠損した op/op マウスと対照群としての正常マウス的大腿骨を用いて, 骨長軸方向をはじめとする BAp の c 軸配向性を, 骨長手に沿った各部位毎の分布として評価した。M-CSF 欠損は, 破骨細胞への分化を阻害し, 破骨細胞数を著しく低下させることで大理石骨症を引き起こす¹⁵⁾。

2. 実験方法

2.1 骨試料

生後 12 週齢の op/op マウスと対照群としての正常マウスの各一匹 ($N=1$) から右大腿骨を摘出した後, 10% 中性緩衝ホルマリンに浸漬し, 保存した。Fig. 1 は本実験で用いられた骨試料の外観を示している。op/op マウスは突然変異体大理石骨症マウスであり, control (ctrl: 対照群) マウスは op/op マウスの同腹子である正常マウスである。op/op マウス的大腿骨は対照群の正常マウスより短く, 典型的な大理石骨症を呈した。

2.2 マイクロ-CT

それぞれ的大腿骨の内部構造は小動物測定用の micro CT である Rigaku R_mCT を用いて観察した。測定条件は 90 kV, 88 μ A で 17 秒の露光時間とし, 空間分解能は 20 μ m とした。

2.3 微小部 X 線回折法

微小部 X 線回折実験は Rigaku R-AXIS BQ の試作装置により行った。BQ とは Bone Quality を略したものであり, 本装置は骨質を示す重要因子としての BAp 配向性を骨試料の加工なしで全自動的に解析することを目指して設計された。全自動化のために本 XRD 装置は X 線検出器として, 富士フイルム株式会社が開発したイメージングプレート (IP) を, ワイセンベルグカメラの写真フィルムに代用した

Fig. 1 Appearance of mouse femurs used and analyzed positions for X-ray diffractometry: (a) op/op; (b) control.

ものであり、装置の配置は主に単結晶の X 線構造解析や精密構造解析による電子密度の研究のため考案されたものを骨質測定用に改良したものである。Fig. 2 には、Rigaku R-Axis Bone Quality (BQ) 試作装置の光学系を概略的に示している。本研究は第一号の試作装置で解析を行ったが、実際の製品では χ 軸、 ϕ 軸を取り除くことで、 ϕ 回転軸に沿った骨試料の移動範囲を広く取れるように (± 15 mm) 設計変更を行なっている。さらに、全自動化のために CCD カメラを通じて撮影した画像、もしくは骨試料の子午線上での X 線

Fig. 2 Schematic drawing of Rigaku R-Axis BQ goniometer prototype and X-ray detecting area by imaging plate as a diffraction detector.

吸収プロファイルを画像解析することにより、全自動的に骨試料のセンタリングと高さの位置設定を行うことが可能となっている。

骨試料からイメージングプレートまでの最短距離は 127.4 mm であり、湾曲イメージングプレートでの検出領域は 256 mm × 460 mm である。その結果、 ω 回転に沿った左右方向にて -60° から $+144^\circ$ までの 2θ 範囲と上下方向にて $\pm 45^\circ$ の 2θ 範囲が測定可能である。イメージングプレートのピクセルサイズは $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ である。本研究では、Cu (λ (Cu $K\alpha$) = 0.15418 nm) と Mo (λ (Mo $K\alpha$) = 0.07107 nm) の回転対陰極型ターゲットと入射側のグラファイトモノクロメータを用いることで単色化を行った。測定は 0.3 mm の金属コリメータ (double-pinhole) を用いて、50 kV, 90 mA (4.5 kW) の出力にて行った。Mo $K\alpha$ 線と Cu $K\alpha$ 線の X 線吸収度合いを調べるため、標準試料として NIST アパタイト (hydroxyapatite; NIST # 2910) を用い、ガラスキャピラリーを用いて測定した。NIST アパタイトへの X 線露光時間は 600 秒で、骨試料に対する Mo $K\alpha$ 特性 X 線の X 線露光時間は 60 秒とした。

骨試料の測定は全自動 X-Y-Z ステージに固定することで行った。X, Y, Z の幾何学関係は、Fig. 3 に示している。 ϕ 軸は骨試料に最も近い回転軸であり、試料の回転軸に相当する。ただし、 χ 軸を除いた場合、もしくは利用しない場合には、 ω 軸により代用可能となる。 χ 軸は骨試料に対し二番目に近い回転軸であり、X 線入射方向に対する骨試料の傾きを可能とする軸である。 ω 軸は、一般的にスキャン軸として用いられる。骨試料における X 線吸収の分布は、本研究ではシンチレーションカウンタ (Rigaku X-ray scintillation counter) により行った。ただし、イメージングプレートを連続的に移動させつつ、ダイレクトビームを解析することで特性 X 線の吸収係数を解析することも可能である。実際の X 線吸収測定は、骨試料に対し、前側 (An-

Fig. 3 Schematic drawing of experimental conditions: X-ray optics system, definition of each axis, and focused area on imaging plate as a diffraction detector.

terior)から後側(Posterior)方向, 内側(Medial)から外側方向(Lateral)方向への2方向から行なった.

Fig. 3 には, 入射 X 線を骨試料にて前側(Anterior)から後側(Posterior)方向に向けて照射する際のイメージングプレート上に得られる入射 X 線と骨試料, 回折リングとの関係を模式的に示している. X 線回折データは, Rigaku R-Axis BQ software によって記録された. 大腿骨試料の解析は, Fig. 1 に示すように, 骨長手方向に沿った 10 部位にて測定し, 試料を脱装着して 3 回繰り返し測定を行った. 骨長手方向における平行方向と垂直方向はそれぞれイメージングプレート上の回折リングの子午線(Meridional)と赤道線(Equatorial)領域の 10 mm (100 pixel) 分の値を積算して解析を行った. それぞれに対応する領域での入射ビームの回折強度は XRD プロファイルとして 2θ (Bragg 角) $-I$ (回折強度) として変換し, (002) と (310) の回折線の積分強度を計算した. (002) に対する (310) の回折積分強度比は先の研究で示したように, BAp 結晶子の c 軸の優先配向と密接に関連している¹¹⁾.

3. 結果と考察

3.1 マイクロ CT 画像

Fig. 4 には, op/op マウスと対照群の正常マウスにおける大腿骨での骨長手方向に対する水平断(Fig. 4(a), (b))と前額断(Fig. 4(c), (d))のマイクロ CT 画像を示している. op/op マウスの大腿骨は対照群の正常マウスに比べ, 明らかに短く, 骨幹中央部でさえも骨髓腔内には明瞭な骨形成過剰による海綿骨の形成が認められる. こうした特徴は, op/op マウスにおける破骨細胞数の低下に起因している¹⁵⁾.

こうした骨形態学的特徴は, 骨吸収不全により大理石骨症を発症した op/op マウスでの典型的な症状である¹⁶⁾. つまり, op/op マウスの大腿骨では薄い皮質骨の形成と骨髓腔での骨梁の過剰形成が認められる一方で, 対照群の正常マウスでは大腿骨の骨端部のみにて海綿骨梁が認められた.

3.2 X 線吸収

特性 X 線の物質に対する吸収は次式で表される.

Fig. 4 X-ray micro-CT images perpendicular and parallel directions to longitudinal bone axis in femurs of op/op and control mice: (a) op/op mouse, perpendicular direction, (b) control mouse, perpendicular direction, (c) op/op mouse, parallel direction, (d) control mouse, parallel direction.

$$I = I_0 e^{-\mu t}$$

I は透過するX線ビームの強度, I_0 は入射ビームの強度, $\mu(\text{cm}^{-1})$ は物体の線吸収係数, t は物体の厚さ(cm)を示す. 一般に, X線の吸収は波長の増加とともに急激に低下する. ハイドロキシアパタイトの場合, 密度は $3.19 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ であることから, 質量係数を用いて, Cu K α 線におけるハイドロキシアパタイトの線吸収係数は $\mu = 159.091 \text{ cm}^{-1}$, Mo K α 線の線吸収係数は $\mu = 19.12 \text{ cm}^{-1}$ と算出した. したがって, 骨試料の厚さが 0.05 cm であるとした場合, Cu K α 線は理論上 99.96% が吸収されるのが, Mo K α 線では 38.4% の吸収しか起こさない. このことは, 透過型 XRD 法の場合, 一定の厚さ以上の骨試料に対して Mo K α 線が Cu K α 線より実験に適していることを示唆する. 本研究では, マウス骨を加工することなく X線回折実験を行うことを目的とすることから, Mo K α 線を用いることで骨微細構造を解析できる可能性がある. Fig. 5 には Cu K α 線と Mo K α 線を用いた NIST アパタイト(標準試料)における回折パターンを示す. 測定条件は同じであり, 使用した特性X線の種類のみが異なる. この図から, Cu K α 線による回折パターンは骨内での吸収により非常に不明瞭であるのに対し, Mo K α 線による回折パターンは骨での吸収が抑制された結果, より明瞭に観測できることは明らかである.

Fig. 6 には, Mo K α 線を用いた際の op/op マウスと対照群の正常マウスからの吸収プロファイルを示した. 吸収プロファイルは透過率がおおよそ 20~40% であり, この値は透過型 XRD 法において適切な範囲であると言われている $\mu t = 1$ をおおよそ満足している¹⁷⁾. このプロファイルは, 両マウスともに X線が皮質骨接線方向に長距離にわたり横切る約 20, 80% 位置で低く, 対照群の正常マウスでは, 中央部の骨髓腔付近を通過する際に再び上昇する. このことは, 非加工で骨髓腔を露出させない場合でも, 皮質骨の位置を明確に示すことを可能であることを示唆している. 一方, op/op マウスでは, 中央部の骨髓腔付近においても, 対照群と比べ透過率の上昇度合いは大きくない. このことは骨髓腔における海綿骨での X線吸収に対応しており, Fig. 4 に示したマイクロ CT 画像とよく一致している. 通常のレントゲン撮像や CT 像の構築には, 白色 X線を用いることから¹⁸⁾, 本装置に

おける特性 X線の利用は, 面積骨密度の定量化に有利である.

3.3 角度分解能と回折面の傾斜

Mo K α 線の弱点は, Cu K α 線と比較した場合, 得られた回折ピークに対する角度分解能の低下にある. Fig. 7 には Mo K α 線を用いた際の典型的な骨試料の回折パターンを示している. この回折パターンのうち, (002)と(310)の回折ピークを用いて回折積分強度比を算出することで骨試料における BAp の c 軸配向性を解析することが可能となる. 同時に Fig. 7 では, $10^\circ \leq 2\theta \leq 20^\circ$ の範囲で拡大された回折パターンを示しているが, (002), (310)のピークはそれぞれ良

Fig. 5 X-ray diffraction patterns from NIST apatite powder placed in 1.5 mm diameter glass capillary. X-ray power is 50 kV and 90 mA and exposure time is 10 min: (a) Cu K α X-ray radiation, (b) Mo K α X-ray radiation.

Fig. 6 Distribution of degree of X-ray transmissivity as a function of bone position to normalized whole bone width at Mo K α X-ray radiation: (a) lateral to medial direction, (b) anterior to posterior direction.

く分離されていることから、回折積分強度比を用いることで、BAp の c 軸配向性を示すことが可能であることを証明している。さらに Mo K α 線に代表される短波長の X 線を用いることで、検出側のピーク幅に対する相対的な角度分解能は低下する。しかしながら BAp においては、本質的な結晶性が低いことから、配向性を解析するにあたり問題とはならない。

大腿骨等の長管骨での BAp 結晶子は骨長手方向に沿って c 軸が優先的に配向している^{11,14}。Mo K α 線での (002) と (310) の X 線回折角度は骨長手方向に対してそれぞれおよそ 6° と 9° 傾きを持つ。我々は、骨長手方向における傾き角度を考慮し、(002)/(310) の積分強度比を測定するため、 $-50^\circ \leq \chi \leq 50^\circ$ における (002) 面の簡易極点測定を実施した。その結果、c 軸の優先配向は骨長手方向と一致するが、骨長手方向における極点の分布は $-15^\circ \leq \chi \leq 15^\circ$ の範囲で極めてブロードであった。このことは骨長手方向に対して 9°

以内程度の傾きは測定上ほとんど無視できることを示している。本測定・解析が骨中の BAp 配向性のスクリーニングを目的とすることから、Mo K α 線を用いた配向性の解析は Bragg 角を小さくし、骨長手方向と解析方向とのずれが小さくなる点でも有利である。

3.4 骨質パラメータとしての BAp 配向性の分布解析

Mo K α 線を用いて、op/op マウスと対照群の正常マウス的大腿骨の骨長手方向に沿った 10 箇所での測定点 (Fig. 1 参照) について X 線回折パターンを調べた。Fig. 8 には、op/op マウスと対照群の正常マウスでの大腿骨の 1, 3, 5, 7, 9 の測定点での回折イメージを示す。Fig. 9 は、Fig. 1 に示したそれぞれの測定点での回折ピークに基づき、(002)/(310) の積分強度比、すなわち BAp の c 軸配向度合いの部位依存性を標準偏差とともに示す。大腿骨長手に平行に c 軸が配列

Fig. 7 Typical X-ray diffraction pattern of bone specimen taken by Mo K α X-ray radiation. Intensity in equatorial 100 pixels (10 mm) on equator (Fig. 3) accumulated and converted to 2θ versus intensity data.

Fig. 8 X-ray diffraction patterns for specimen positions 1, 3, 5, 7, and 9; upper: op/op mouse, lower: control mouse. (002) and (310) diffraction rings were focused.

Fig. 9 Distribution of (002)/(310) integrated intensity ratio along longitudinal direction in op/op and control mice. Preferential orientation degrees of BAp c-axis as integrated intensity ratios parallel and perpendicular to longitudinal bone axis analyzed at corresponding positions of equatorial and meridional, respectively, as described in Fig. 3.

した BAp 結晶子は回折パターンの子午線 (Meridional) 部分で観測され、一方で垂直に配列している BAp 結晶子は回折パターンの赤道線 (Equatorial) 部分で観測される (Fig. 3 参考)。つまり、骨長手方向と深く関連する回折パターンは子午線部分のピークであり、正常な骨では (002) ピークに対応する BAp の c 軸の分布は高い強度を示し、子午線付近から赤道線付近に向かって強い強度依存性を示す。その結果、赤道線部分では非常に弱い (002) 回折強度となる。さらに、赤道線上と子午線上の間で、(002)/(310) の積分強度比を連続的に解析することによって、骨長軸に対する配向性の方位依存性を明確に示すことも可能となる。

子午線上の骨長手方向に沿って、op/op マウスと対照群の正常マウスは大腿骨骨幹中央部にて (002)/(310) の積分強度比が最大値を示す類似の傾向が認められた。しかし、op/op マウスはすべての部位で対照群の正常マウスに比べ極めて配向性が極端に低い。こうした結果はこれまでに報告した op/op マウスの大腿骨中央部に見られる骨長手方向に沿った配向性の変化と同様な傾向を示している^{19,20)}。ただし、これまでの方法では BAp 配向性の解析には、骨試料を加工しなければならなかったことから、骨長手方向に沿う連続的な測定は極めて困難、もしくは時間を要した^{11,19,20)}。一方で、今回実施した Mo K α 線を用いた透過型光学系による解析ではマウスの骨を加工することなく BAp 配向性の測定が可能であった。したがって、本研究で用いた手法は骨質パラメータとして BAp の c 軸配向性を極めて短時間で解析することに成功した。

さらに、骨幹中央部では、膜性骨化により骨径が増大することから、op/op マウスと対照群の正常マウスでの配向性の違いは、膜性骨化における破骨細胞の配向性形成への役割が重要であることを示唆している。一方で、op/op マウスと正常マウスでの BAp 配向性の異なる分布は、骨長手方向に沿った各マウスでの強い配向性の違いから、内軟骨性骨化や膜

性骨化といった骨化過程での破骨細胞の寄与とも深く関連するものと考えられる。その詳細については今後更なる検討が必要である。しかしながら、本手法は骨質解析の手法として、加工なしで骨長手方向に沿った配向度の解析を可能とし、疾患硬組織の解析やそれを元にした薬剤投与効果の解明などのスクリーニングに対し、非常に強い効果を発揮するものと期待される。

4. 結 言

12 週齢における大理石骨病 (op/op) マウスと対照群としての正常マウスに対し、Mo K α 線による透過型 X 線回折法を用いて骨質パラメータとしての BAp の c 軸配向性解析を行い、以下の結論を導いた。

(1) Mo K α 線が骨試料での BAp-c 軸配向性を解析し、非加工でスクリーニングするために有効な手段であることを示した。

(2) 透過法により Mo K α 線による (002) と (310) の回折が解析でき、しかも欠点とされる角度分解能の低下は BAp の結晶性の低下から無視することができた。

(3) (002)/(310) の積分強度比は BAp の c 軸配向性に強く関連し、op/op マウスと対照群の正常マウスとの間にて明瞭な違いを示した。とりわけ膜性骨化による骨径の増大が見込まれる骨幹中央部でその違いが顕著であることから、膜性骨化における破骨細胞の配向性形成への役割が重要であるものと推察された。

今回提案する手法は多くの利点がある。骨の加工なしで骨長手方向に沿った BAp の c 軸配向分布を解析することが出来、角度分解能の低さや実際の解析方向の骨軸からのずれは、骨そのものの結晶性の低さや Mo K α 線での Bragg 角の低さにより、それぞれ解消することが可能であった。本研究では、大理石骨病 (op/op) マウスを用いることで本手法の有効性を証明した。近未来の骨質パラメータとして BAp の c 軸配向性は極めて重要であると考えられることから、本手法は骨成長、硬組織疾患の形成・治療、骨再生過程の解明、薬剤投与の有効性など広い領域に渡って役立つものと期待される。

本研究を遂行するにあたり、研究拠点形成費等補助金グローバル COE プログラム「構造・機能先進材料デザイン教育研究拠点」(大阪大学)、文部科学省科学費補助金、平成 15 年度新エネルギー・産業技術総合開発機構産業技術研究助成 (NEDO) (03A47002)、池谷科学技術財団から研究費の支援を受けました。ここに感謝の意を表します。

文 献

- 1) A. Shibata, K. Sasaki and T. Kinefuchi: *Advances in X-ray Analysis* **35** (1992) 407-413.
- 2) K. Sasaki, Y. Hirose and T. Sasaki: *Advances in X-ray Analysis* **37** (1994) 483-490.
- 3) W. J. Landis: *Bone* **16** (1995) 533-544.
- 4) A. Boskey: *Osteoporosis Int.* **14** (2003) S16-S21.

- 5) S. Weiner and H. D. Wagner: *Annu. Rev. Mater. Sci.* **28**(1998) 271–298.
- 6) NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis and Therapy, *JAMA* **285**(2001) 785–795.
- 7) R. Marcus, M. Wong, H. Heath III and J. L. Stock: *Endocr. Rev.* **23**(2002) 16–37.
- 8) J. F. Veenland, T. M. Link, W. Konermann, N. Meier, J. L. Grashuis and E. S. Gelsema: *Calcif. Tissue Int.* **61**(1997) 474–479.
- 9) J. C. Elliot: *Structure and chemistry of the apatites and other calcium phosphates*, (Elsevier, Amsterdam, 1994) pp. 1–389.
- 10) W. J. Landis, M. J. Song, A. Leith, L. McEwen and B. F. McEwen: *J. Struct. Biol.* **110**(1993) 39–54.
- 11) T. Nakano, Y. Kaibara, Y. Tabata, N. Nagata, S. Enomoto, E. Marukawa and Y. Umakoshi: *Bone* **31**(2002) 479–487.
- 12) T. Nakano, Y. Kaibara, Y. Tabata, N. Nagata, S. Enomoto, E. Marukawa and Y. Umakoshi: *Tissue engineering for therapeutic use 6, Analysis of hydroxyapatite (HAp) texture in regenerated hard tissues using micro-beam X-ray diffractometer technique*, (Elsevier, Tokyo 2002) pp. 95–104.
- 13) T. Nakano, T. Ishimoto, Y. Umakoshi and Y. Tabata: *Mater. Sci. Forum* **595–543**(2007) 675–680.
- 14) N. Sasaki, N. Matsushima, T. Ikawa, J. Yamamura and A. Fukuda: *J. Biomech.* **22**(1989) 157–164.
- 15) S.L. Abboud, K. Woodruff, C. Liu, V. Shen and N. Ghosh-Choudhury: *Endocrinology* **143**(2002) 1942–1949.
- 16) S. Abe, H. Watanabe, A. Hirayama, E. Shibuya, M. Hashimoto and Y. Ide: *BJR* **73**(2000) 1078–1082.
- 17) F. Gozzo: *Non-conventional sources I: X-ray Powder Diffraction using Synchrotron Radiation*, (Paul Scherrer Institute, 2008) pp. 21–22.
- 18) Y. Onishi, T. Nakashima, A. Koike, Y. Neo, H. Mimura and T. Aoki: *IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record*, (2007) pp. 1170–1174.
- 19) J-W. Lee, T. Nakano, S. Toyosawa, N. Ijuhin, Y. Tabata, M. Yamamoto and Y. Umakoshi: *Mater. Sci. Forum* **512**(2006) 265–268.
- 20) J-W. Lee, T. Nakano, S. Toyosawa, Y. Tabata and Y. Umakoshi: *Mater. Trans.* **48**(2007) 337–342.