TOPICS

松垣あいら・中野 貴由

表面形状による細胞・骨配向化制御 ~ナノ配向溝による特異な直交性骨配向化現象~

Division of Materials and Manufacturing Science, Graduate School of Engineering, Osaka University 大阪大学 大学院工学研究科 マテリアル生産科学専攻

骨のコラーゲン/アパタイト配向性は材料学的観点からの 骨質指標であり、再生過程では骨配向性・骨強度の早期回 復が求められる^{1,2)}. 著者らのグループでは, バイオマテリアル による細胞・骨配向化制御を駆使した骨の健全化に取り組ん でいる。骨アパタイトの秩序だった結晶学的配向性を作り出 すには、個々の細胞配列パターンの制御が必要不可欠である (図1)、材料の異方性表面形状,例えば一方向性溝構造は, 骨芽細胞の優先配列化をもたらし、アパタイトが配向化した再 生骨を短期間で形成可能である. 骨芽細胞配列化度は基板 材料の異方性の度合と相関し、さらに、骨配向性の強さは、 骨芽細胞配列化度と相関する³⁾、すなわち、基板の異方性を 材料科学的手法に基づき制御することで、任意の骨配向性を 得ることが可能となる。材料表面への異方性の導入は、金属 単結晶の転位運動4,5)や超高速レーザ加工技術6),応力場7), さらにはコラーゲン分子配列の制御8)によって可能であり、細 胞・骨異方性発現をもたらす生体分子サイズのナノスケールの 微細構造制御に基づく骨配向化を実現している.

こうした材料による骨配向化誘導は、材料-生体界面に おいて細胞・遺伝子レベルから統制され、配向化をもたらす 分子機序の理解は、最終的には骨疾患治療の新たな方法 論や、医療用デバイス創出につながる可能性を秘める.著 者らは近年、金属材料表面形状を利用した骨配向化培養



図1 アパタイト配向化のためのバイオマテリアルによる細胞配列化制御. 骨配向化のためにはバイオマテリアルを駆使した細胞配列化制御 が必要不可欠であり、そのための細胞制御の方法論として、たと えば材料表面形状や分子配列、細胞周囲の応力場制御により任 意の配向化骨を誘導可能である.



図2 チタン合金表面へのLIPSS導入による骨芽細胞・骨基質配向化誘 導.(上段)flat;鏡面研磨, rough;円偏光照射, nanogrooved;直 線偏光照射基板のSPM像.(中段)基板表面での培養骨芽細胞免 疫染色像.(下段)骨芽細胞により産生されたコラーゲン基質の免 疫染色像.ランダム(黒矢頭)および配向化(白矢頭)したコラーゲ ン線維形成.文献9より改変引用.

モデルを用いることで、骨配向化の支配因子のひとつとして 接着斑関連遺伝子を見出した⁹⁾.

超短パルスレーザによる高速溝加工LIPSS(レーザ誘起周 期表面構造)を用い, チタン合金表面に波長オーダーのナノメー トルスケールの微細周期構造を自己組織的に形成した. 周期 構造に対して骨芽細胞は溝方向へと伸展・優先配列化する. 興味深いことに,ナノ配向溝に沿った配列化細胞は,細胞伸 展に直交方向にコラーゲン基質を形成する(図2). こういった 特異な「直交性骨配向化」現象は,マイクロメートルスケールの 一方向性溝の場合にみられる細胞方向への骨基質配向化と はまったく異なり,ナノオーダーの溝形状への特異的応答現象 として見いだされた. 加えてこういった配向化現象は,遺伝子 レベルから緻密に制御されることがマイクロアレイ法を活用し た網羅的遺伝子発現解析に基づき明らかになった.

図3には、表面粗さ・指向性の有無に応じた遺伝子発現 変動数と対応する遺伝子名を示す.配向化により14遺伝子、 表面粗さに応じて6遺伝子が統計学的な有意性をもって発 現変動した.なかでも著者らは、ナノ配向溝による接着斑成 熟化と配向性との関連に焦点をあて、Tspan11遺伝子に着 目した.Tspan11遺伝子はCD151のパラログであり、イン テグリンのクラスター化により接着斑構造・機能をダイレクト に制御する.ナノ配向溝上で配列化した骨芽細胞は特異的



図3 マイクロアレイによる各基板上での骨芽細胞遺伝子発現変化.数 字は基板の表面粗さおよび指向性の有無に基づき1.5倍以上の発 現変動を示す遺伝子数を表す.文献9より改変引用.

に、溝方向へと成熟化した巨大接着斑を形成することから、 *Tspan11*は接着斑成熟化を介して骨芽細胞-骨基質の直 交配向化を制御することが予想された。

Tspan11 遺伝子発現抑制した骨芽細胞では,ナノ配向溝 に沿った細胞配列化が低下し,さらには正常細胞ではナノ溝 上で細胞配列に直交するコラーゲン基質が,Tspan11抑制に よりその直交関係をも破綻することが示された(図4).すなわ ち,Tspan11 遺伝子の有無により,接着斑の形態が大きく変 化し,ナノ溝に沿った骨芽細胞配列が低下,細胞と骨基質配 向方向の垂直関係が破綻することを見出した(図5).

こうした骨配向化誘導のための細胞制御方法論の確立, さらにはその制御機序の解明により,骨配向化を積極的に 促進し,初期から長期での固定を実現する骨バイオマテリア ルの基本概念確立へとつながった。今回の成果は,人工 関節等の骨系医療デバイス表面にナノ配向溝構造を与えるこ とで,人工関節周囲に形成する新生骨組織の微細構造まで を健全化できる可能性を示しており,遺伝子レベルから骨配 向性を自由にコントロールできる可能性を示している.すなわ ち,配向化骨誘導により半永久的に機能発現可能な次世代



図4 (上段)ナノ配向溝に対するTspan11発現抑制骨芽細胞の配列化応答.コラーゲン配向性(C=O/C-H強度比)をレーダチャートにて示す.(下段)Tspan11発現抑制による細胞配列化低下,およびコラーゲン垂直配向化低下の比較.文献9より改変引用. *: p<0.05, **: p<0.01.</p>



図5 Tspan11による接着斑成熟化を介した骨配向化機構.正常な骨 芽細胞は、ナノ配向溝に対して配列化する一方で、細胞方向に垂 直に骨基質を形成する.Tspan11欠損状態においては、溝方向 への接着斑成熟化が妨げられ、直交性の骨基質形成に破綻をも たらす.文献9より改変引用.

の骨医療デバイス確立につながるものと大いに期待される. 利益相反の開示

日本バイオマテリアル学会の投稿規定の基準による利益相 反はありません。

参考文献

- Nakano T et al.: Biological apatite (BAp) crystallographic orientation and texture as a new index for assessing the microstructure and function of bone regenerated by tissue engineering, Bone, 2012, 51: 741-747.
- Ishimoto T et al.: Degree of biological apatite c-axis orientation rather than bone mineral density controls mechanical function in bone regenerated using rBMP-2, J Bone Miner Res, 2013, 28: 1170-1179.
- Matsugaki A et al.: Quantitative regulation of bone-mimetic, oriented collagen/apatite matrix structure depends on the degree of osteoblast alignment on oriented collagen substrates, J Biomed Mater Res A, 2015, 103: 489-499.
- Matsugaki A et al.: The alignment of MC3T3-E1 osteoblasts on steps of slip traces introduced by dislocation motion, Biomaterials, 2012, 33: 7327-7335.
- Matsugaki A et al.: Control of cellular arrangement by surface topography induced by plastic deformation, Crystals, 2016, 6: 73.
- Matsugaki A et al.: Abnormal arrangement of a collagen/ apatite extracellular matrix orthogonal to osteoblast alignment is constructed by a nanoscale periodic surface structure, Biomaterials, 2015, 37: 134-143.
- Matsugaki A et al.: Continuous cyclic stretch induces osteoblast alignment and formation of anisotropic collagen fiber matrix, Acta Biomater, 2013, 9: 7227-7235.
- Ozasa R et al.: Construction of human induced pluripotent stem cell-derived oriented bone matrix microstructure by using in vitro engineered anisotropic culture model, J Biomed Mater Res A, 2018, 106: 360-369.
- Nakanishi Y et al.: Unique arrangement of bone matrix orthogonal to osteoblast alignment controlled by Tspan11-mediated focal adhesion assembly, Biomaterials, 2019, 209: 103-110.