

新

# 力を診る

臨床と研究の接点

編著

市川哲雄

森本達也

熊谷真一

著

安陪 晋  
石垣尚一  
石田雄一  
岩脇有軌  
魚島勝美  
牛島 隆  
大倉一夫  
加来 賢  
加藤 均  
河井 聡  
川上清志  
黒嶋伸一郎  
後藤崇晴

坂口 究  
澤瀬 隆  
柴垣あかり  
水頭英樹  
鈴木 尚  
鈴木善貴  
鷹岡竜一  
武田孝之  
田中恭恵  
谷脇竜弥  
千葉英史  
友竹偉則  
中野貴由

西山 暁  
服部佳功  
林 康博  
細木秀彦  
前田芳信  
牧野 明  
牧 宏佳  
松香芳三  
松本文博  
山城 隆  
山本照子  
横山敦郎  
渡邊 恵

医歯薬出版株式会社

# 新 力を診る

臨床と研究の接点

編著

市川哲雄

森本達也

熊谷真一

著

安陪 晋  
石垣尚一  
石田雄一  
岩脇有軌  
魚島勝美  
牛島 隆  
大倉一夫  
加来 賢  
加藤 均  
河井 聡  
川上清志  
黒嶋伸一郎  
後藤崇晴

坂口 究  
澤瀬 隆  
柴垣あかり  
水頭英樹  
鈴木 尚  
鈴木善貴  
鷹岡竜一  
武田孝之  
田中恭恵  
谷脇竜弥  
千葉英史  
友竹偉則  
中野貴由

西山 暁  
服部佳功  
林 康博  
細木秀彦  
前田芳信  
牧野 明  
牧 宏佳  
松香芳三  
松本文博  
山城 隆  
山本照子  
横山敦郎  
渡邊 恵

医歯薬出版株式会社

# 骨のメカノバイオロジー

澤瀬 隆 Takashi Sawase<sup>1)</sup> 黒嶋伸一郎 Shinichiro Kuroshima<sup>1)</sup> 中野貴由 Takayoshi Nakano<sup>2)</sup>

1) 長崎大学生命医科学域口腔インプラント学分野

2) 大阪大学大学院工学研究科マテリアル生産科学専攻生体材料学領域

## はじめに

骨は筋、神経系とともに身体活動を担う運動器と総称される。運動器の障害が死に直結することはないものの、ヒトは運動器を介する身体活動により、立ち、歩き、行動できることから、運動器は生活する機能と直結し、QOLに大きく影響するといわれている。

運動器であるがゆえにメカニカルなインプットは必然であり、骨は荷重応答性に微細構造を適応変化させるという Wolff の法則<sup>1)</sup>、ならびに骨をひずませる荷重の大きさの違いが骨組織の反応性を変化させるという Frost のメカノスタット理論<sup>2)</sup>などで示されるように、荷重と骨には深い関連性がある。卑近な例では、宇宙での長期滞在は有意に骨構造を変化させて骨粗鬆症を惹起することが示されており<sup>3,4)</sup>、このことは動物を用いた尾部懸垂モデルからも証明されている<sup>5)</sup>。またプロテニスプレーヤーでは、利き腕の前腕の直径、長さ、骨密度が有意に増加することも報告され、ショット時の機械的刺激(振動)がもたらす圧電効果が関与するといわれている<sup>6)</sup>。

一方、歯科臨床においては、コンビネーションシンドロームと称される過重負担の義歯床下顎骨の吸収や、それとは対照的に咬合力の強い患者における骨隆起など、荷重の多寡による骨形態の増減を目にすることはまれではない。骨組織が荷重応答性にその形態や階層的微細構造を変化させることは明らかであるが、本稿では、骨の荷重応答の主役を担うといわれる骨細胞にフォーカスし、骨細胞がどのようにして機械的刺激を感受しているかというメカノセンシング機構、ならびに伝達された刺激が骨形成の

多寡、すなわち骨量変化に関わる経路、メカノトランスダクションについて概説する。さらに近年、骨粗鬆症研究を基盤として、「骨質」という新たな概念が提唱されており、力学機能との関連が注目されていることから、機械的刺激に応答する骨質変化についても、あわせて解説しようと思う。

## 骨量のメカノバイオロジー<sup>7)</sup>

### 1) 骨細胞の特徴

#### (1) 骨細胞の役割

骨細胞は骨芽細胞の最終分化形態で、骨関連細胞の90～95%を占める。骨細胞は、①骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収を制御して骨恒常性を維持すること、②腎臓や副甲状腺とともにリン代謝を調節すること、ならびに、③骨の圧感覚やメカノトランスダクションの主軸を担うこと、などが明らかにされているが、ここでは、③に焦点を絞り、メカノバイオロジーについて解説する。

#### (2) 骨細胞の生存環境

骨細胞は非常にユニークな形態をしながら骨小腔—骨細管系システムを構築しており、種々の分子を発現する(図1)。骨細胞は骨小腔に包埋されているが、骨小腔の骨壁には直接接触せず、コラーゲンから構成される周囲細胞基質(PCM)が骨細胞を取り囲む。しかし、このPCMも骨細胞とは直接接触せず、ナノメートルオーダーで離れている。一方、骨基質のコラーゲンマトリックス突起は骨細胞樹状突起と接触しており、コラーゲン小丘と樹状突起の間には、局所的にインテグリン介在接着(FAs)が存在し、物理的シグナルを骨細胞の細胞骨格へ伝達する。さらにギャップジャンクション[コネキシン(Cx)43]、一次繊毛、細胞骨格、イオンチャネ

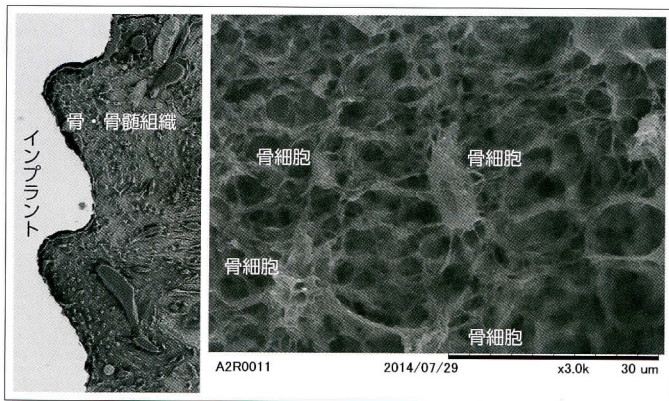


図1 インプラント周囲骨・骨髓組織の電子顕微鏡像とその拡大像（骨細胞が樹状突起を介してネットワークを形成していることに注目）

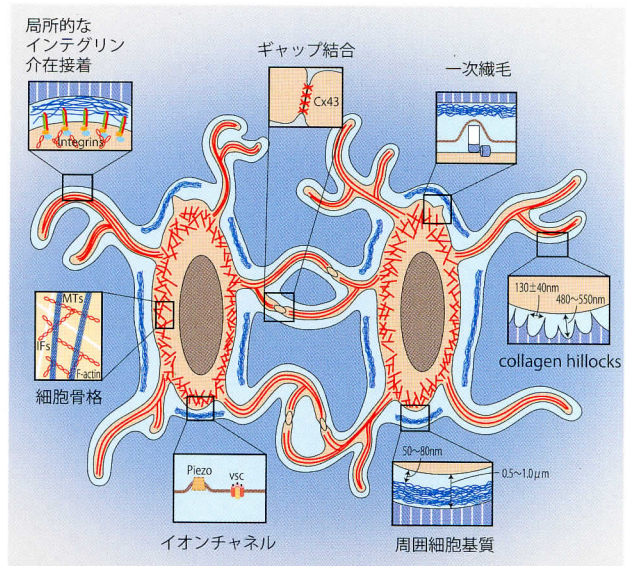


図2 骨細胞のシェーマ (Qin ほか, 2020<sup>7)</sup> をもとに作成)

ル (PIEZO1 など) などが骨細胞のメカノセンサーとして注目されている (図2)。

## 2) 骨細胞のメカノセンサー

骨細胞は、外部からの荷重をそのまま受け取れないため、ひずみ、ストレス、ずり（応力）、浸透圧、液体の流れ、流動電位、加速度、ならびに細胞変形などに変換されて荷重刺激を受容すると考えられている。本項では、機械的の刺激を受容する骨細胞のメカノセンサーについて解説する。

### (1) 細胞骨格と樹状突起

骨細胞には樹状突起が存在するが (図1), アクチンフィラメントであるF-アクチン, 微小管 (MTs), ならびに中間径フィラメント (Ifs) の3つが細胞骨格の主役を担う。これら細胞骨格成分の機械的特性は, フィラメント長さ, 架橋構造, 細胞骨格ポリマーへの結合タンパク質とともに, 細胞骨格ネットワークと細胞の機械的特性を決定する (図3)。機械的の刺激は, 主として骨細胞の樹状突起で感受された後に細胞骨格フィラメントなどを介して伝達され, 最終的にはスクレロスチンをコードする *Sost* 遺伝子, ならびに, カルシウムイオンやATPといったセカンドメッセンジャーにより細胞小器官の活動を惹起する。

### (2) FAs: インテグリン (図3)

細胞は接着斑 (Focal adhesion: FA) の複合体を介して近くの (超) 微小環境を感知するが, FA複合体の主役はインテグリンである。インテグリン

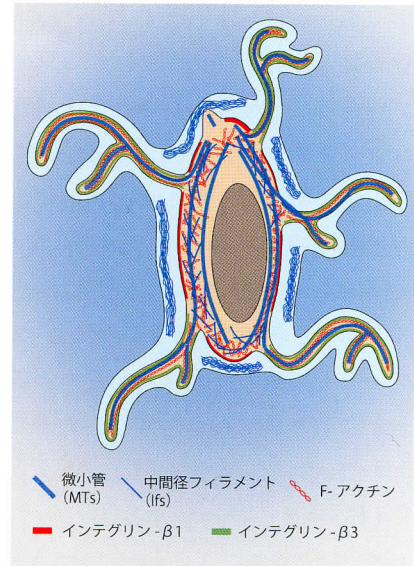


図3 FAsとインテグリン (Qin ほか, 2020<sup>7)</sup> をもとに作成)

はすべての骨関連細胞で発現するが, 骨細胞では  $\beta 1$  と  $\beta 3$  インテグリンが発現する。インテグリン  $\beta 1$  は骨細胞の細胞体でFA複合体を形成し, インテグリン  $\beta 3$  は骨細胞樹状突起で, 特殊なメカノトランスダクション複合体を形成して骨細管壁に直接結合するため, 2つのインテグリンは, その役割が異なると考えられている。

### (3) ギャップ結合

細胞は, FA複合体だけではなく, ギャップ結合やヘミチャンネル (=コネクソン) を介して近隣細胞や環境と連絡を取り合う。1つのコネクソンは, Cxが6量体を形成したもので, 分子量が1000以下の低分子が通過可能である (図4)。

骨組織ではCx43によるギャップ結合が豊富であり,

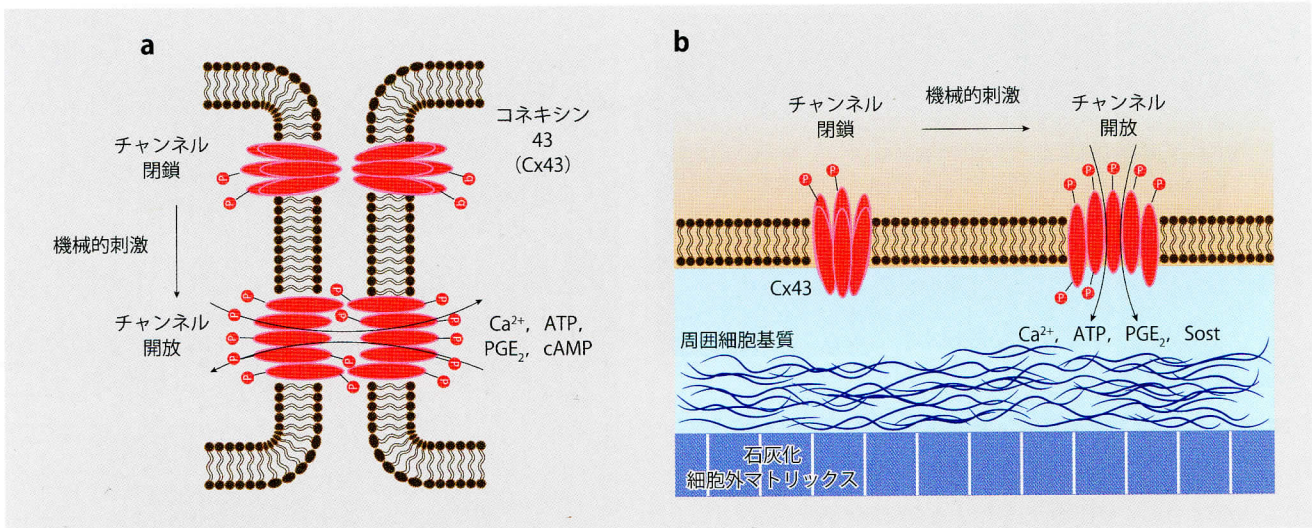


図4 ギャップ結合とヘミチャンネル (Qin ほか, 2020<sup>7)</sup> をもとに作成)

ホルモンや機械的刺激に反応して骨の恒常性を保つ。骨細胞の Cx43 の役割として、① Cx43 を介したギャップ結合は、骨細胞からの同化・異化作用を骨リモデリングへ変換する化学的・機械的シグナルの伝達が可能、② Cx43 を介したヘミチャンネルによる、自己分泌・内分泌効果への貢献、③ Cx43 の骨細胞死制御による、局所的な骨芽細胞と破骨細胞活性への影響、ならびに、④ Cx43 と骨細胞の FAs, タンパク質, プロテインキナーゼとの直接・間接的結合による骨恒常性の促進などが証明されており、機械的刺激受容器としてきわめて多岐にわたる役割を担う。

#### (4) イオンチャンネル

機械的刺激による最も早い細胞応答は 1 分以内に起こり、最初のイベントとして細胞内カルシウム濃度が上昇するが、このカルシウム濃度の変化こそが、機械的刺激応答性イオンチャンネル活性化のトリガーとなり、荷重環境下における細胞膜の形態変化から細胞膜の張力が変化することによって、イオンチャンネルは開放する。

ここでは、皮膚触覚のメカノセンサーとして認知され、2021 年のノーベル医学・生理学賞を受賞につながった PIEZO1 イオンチャンネルを紹介する。PIEZO1 は巨大なインチャンネルで、特徴的で大きくカーブしたブレイド状の形態をしており (図 5)、骨芽細胞と骨細胞で発現し、機械的刺激依存的に骨形成を制御する。近年、PIEZO1 は機械的刺激により、骨形成や細胞内カルシウム濃度を制御することが知られている (図 6)。

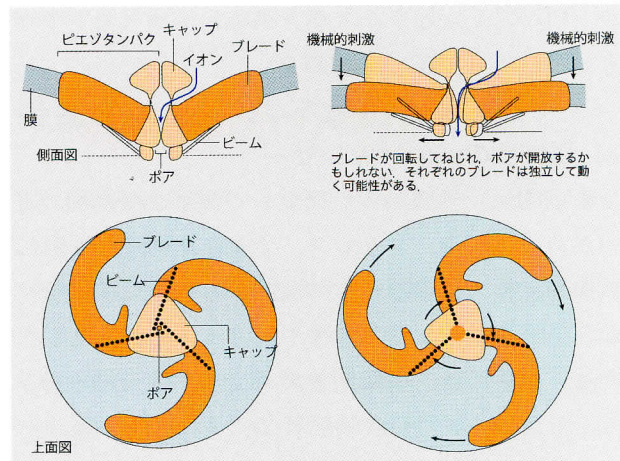


図5 PIEZO1 の構造 (Dance A. The quest to decipher how the body's cells sense touch. Nature. 2020; 577(7789): 158-160 をもとに作成)

### 3) メカノトランスダクションの正体 (図 6)

機械的刺激が骨細胞のメカノセンサーに受け渡された後、Wnt/ $\beta$ -Catenin 経路, FAs 経路, 細胞死と老化経路, Sclerostin の産生 (増大・抑制) 経路, ならびに YAP/TAZ 経路などのシグナル伝達経路により骨形成や骨吸収が惹起されるが、ここでは、Wnt/ $\beta$ -Catenin 経路, FAs 経路, Sclerostin 経路について解説する。

#### (1) Wnt/ $\beta$ -Catenin 経路

機械的刺激により、古典的 Wnt/ $\beta$ -Catenin 経路が活性化される。すなわち、機械的刺激により Lrp5/Lrp6/FZD 共受容体複合体と Wnt リガンドが結合すると、FZD を介したリン酸化により細胞内の Dsh が

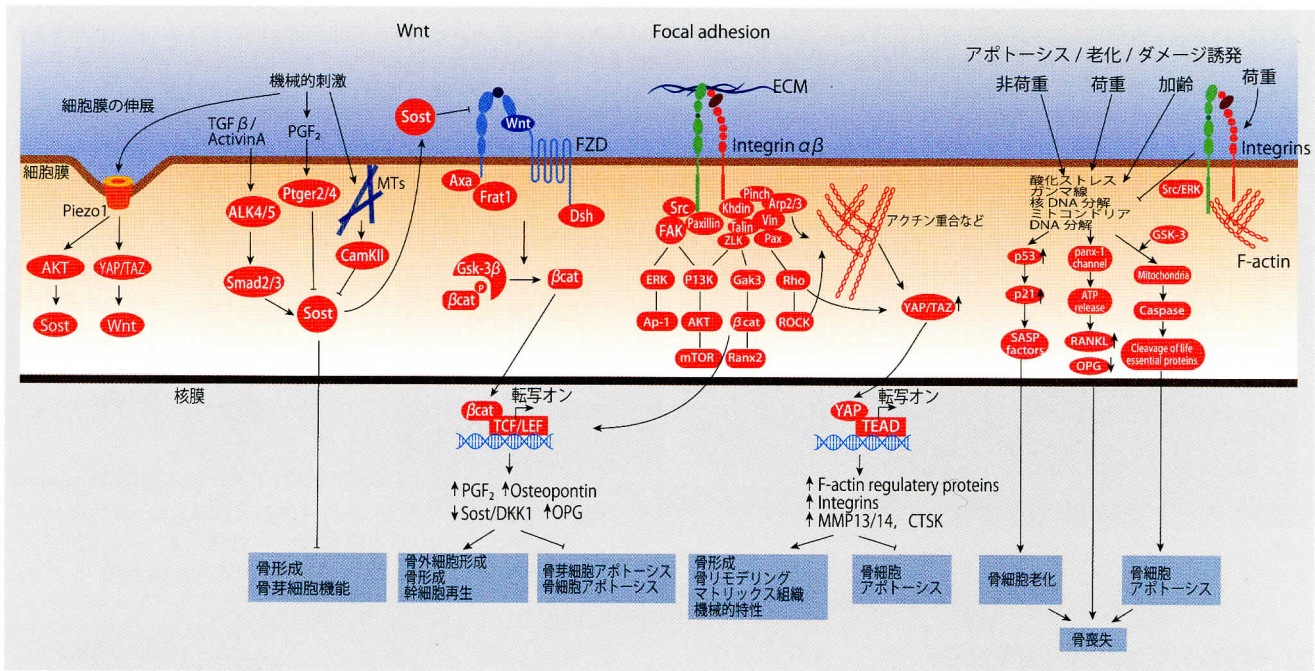


図6 機械的刺激後に起こる細胞シグナル伝達 (Qin ほか, 2020<sup>7)</sup> をもとに作成)

活性化されて Gsk-3β が活性化されるが、これにより β-Catenin の分解が起こらなくなって細胞内に蓄積するため、その一部が核内に移行し、転写因子の T cell factor (TCF) や Lymphoid enhancer factor (LEF) の転写共役分子として作用し、標的遺伝子の転写活性化や、Sost 遺伝子の転写抑制、さらには PGE2 などの分泌を誘導する。

(2) FAs 経路

FA 複合体において、Kindlin-2, Talin やその他のタンパク質がインテグリンβサブユニットと細胞質内で直接結合し、Pinch, Paxillin, Vinculin, ならびに Arp2/3 タンパク質と結合する。このような接着分子複合体は、細胞外で細胞外基質と F-アクチン細胞骨格と連結し、Erk 経路, PI3K 経路, Gsk3 経路, ならびに Rho 経路などを活性化する。

(3) スクレロスチンの産生 (増大・抑制) 経路

機械的刺激により TGF-β-Smad2/3 経路が活性化されてスクレロスチンの産生増大が、また、Peger2/4 経路と細胞骨格 MT 経路を介してスクレロスチンの産生抑制がそれぞれ誘導される。一方、Sost 遺伝子にコードされているスクレロスチンは、Wnt シグナル経路に重要な Lrp5/Lrp6/FZD 共受容体複合体に競合的に結合し、古典的 Wnt/β-Catenin 経路を負に調節することから、TGF-β-Smad2/3 経

路が活性化されると骨量は減少し、Peger2/4 経路と細胞骨格 MT 経路が活性化すると骨量は増大する方向へと誘導される。

骨質のメカノバイオロジー

1) 骨質とは

骨の機能を力学的観点から考察すると、骨の力学的機能は「骨量」と「骨強度」から構成され、骨強度は骨密度とほぼ同義であることから、骨の力学的機能=骨量+骨強度=骨量+骨密度 (つまり骨強度=骨密度) という考えが正しいとされてきた。ところが2000年、米国立衛生研究所 (NIH) は、骨強度は骨密度だけでは完全に説明できず、新たに骨強度の指標のひとつとして「骨質 (bone quality)」の探索が重要であることを提唱した<sup>8,9)</sup>。

ここで示された「骨質 (bone quality)」とは、「骨折への抵抗性を示す骨の総合的な特徴」と定義され<sup>10)</sup>、①骨構造 (bone architecture)、②骨代謝回転 (bone turnover)、③石灰化 (mineralization)、ならびに損傷の蓄積 (damage accumulation) などから構成される概念である<sup>8)</sup>。すなわち、骨質と骨密度は完全に独立した概念であり、骨質は複数の要素から構成されるものとされている (図7)。

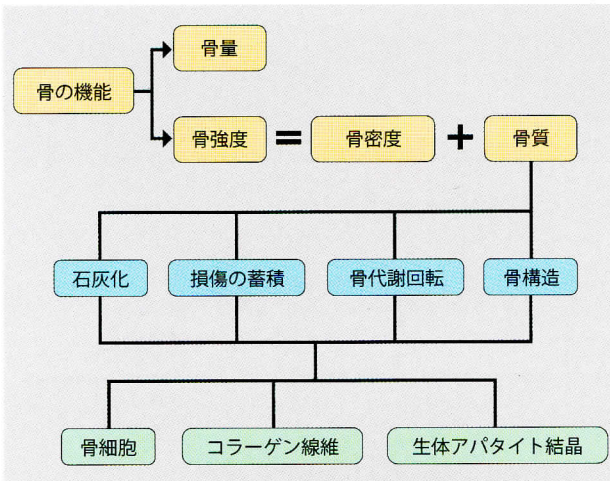


図7 新しい骨質の新しい概念

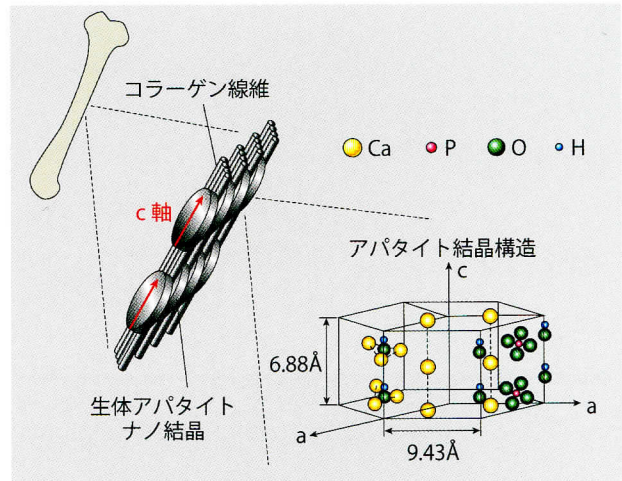


図8 生体アパタイト結晶は六方晶であり、コラーゲン線維のホール部近傍を起点に沈着し、コラーゲン線維の走向に沿って、c 軸方向が規則配列する

## 2) 骨質のメカノバイオロジー

骨質の構成要素のうち客観的評価が可能な指標として、骨構造が注目されている。縦方向、横方向、回旋など、さまざまな方向からの荷重を受ける大腿骨頭や椎体の海綿骨梁は、巨視的に極めて整然と配列していることが知られ<sup>11)</sup>、微視的には、骨細胞ネットワーク、コラーゲン線維の優先的配向（優先配向＝主要な配列方向）、ならびに生体アパタイト結晶の配向性などが、力学的機能と密接な関わりをもつことが証明されている。

「配向性」とは、化学用語として各種置換基への優先反応性を、また金属工学用語としては、結晶の面方位の優先配列性を示すもので、骨微細構造においては、骨組織の主成分である生体アパタイト結晶とコラーゲン線維の配列が特定の方向に特定の量として配列するという事となる。さらに図8に示す通り、生体アパタイト結晶の成長はコラーゲン線維のホール部近傍を基点とするために両者の配向性は相関するとともに、骨に加わる最大荷重軸方位と一致することが示されている<sup>12)</sup>。共著者の中野らは、大腿骨や脛骨といった長管骨では、生体アパタイト結晶のc軸が頭尾軸方向（長手方向）、すなわち自重を支持する方向に配向すると報告している。あたかも鉄筋コンクリートの柱に縦方向に優先的に鉄筋を配置することで、強度を増すのに近似している（図9）。

さらに興味深いことに、下顎骨の生体アパタイト結晶は、下顎骨骨体部においては長手方向、すなわち近遠心方向に優先配向するのに対し、咀嚼荷重を

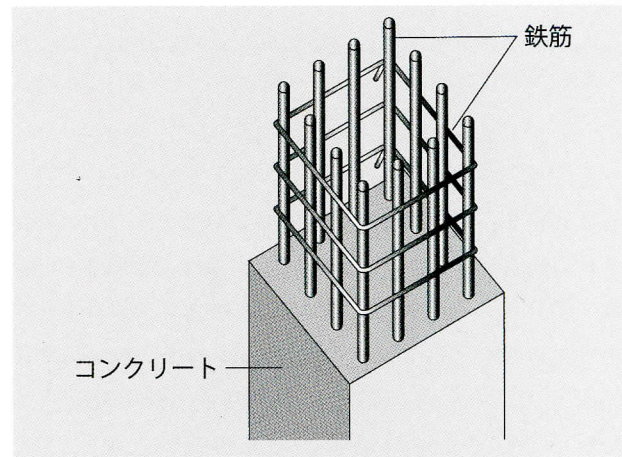


図9 長管骨の生体アパタイト結晶やコラーゲン線維の優先配向性は、鉄筋コンクリートの柱に封入される鉄筋の構造に近似する

受ける歯の近傍では、元来の近遠心方向と直行する歯軸方向への優先配向に変化することが明らかにされている。このことは、骨質の構成要素である骨微細構造が、メカニカルな刺激に反応する、まさにメカノバイオロジーを示すものである。33, 34 ページに示される通り、歯を介した荷重負荷は歯根膜の血液供給やシャープ線維に影響を受けることから、より骨組織に対するダイレクトな荷重負荷のモデルとして、インプラントを介した骨質のメカノバイオロジーについて解説したいと思う。

## 3) インプラント周囲骨の骨質とメカノバイオロジー

一般歯科領域で「骨質」を認識する機会は多くないが、インプラント治療においては、骨質は骨量と

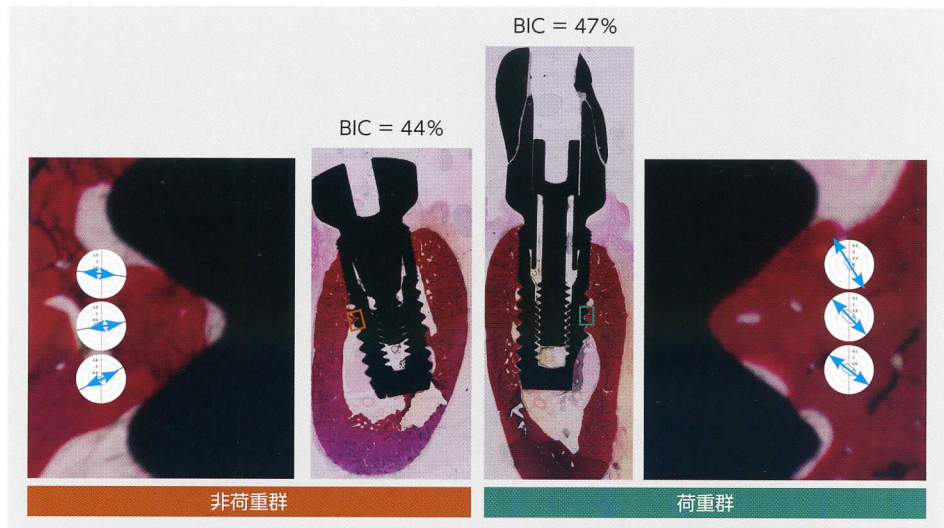


図 10 荷重の有無によるインプラント周囲骨質の変化

ともにオッセオインテグレーションを達成するための重要な因子の一つとして認識されている<sup>13)</sup>。インプラント臨床における骨質は、Leckholm & Zarb の分類<sup>14)</sup>や、Misch の分類<sup>15)</sup>で評価されるが、前者は皮質骨と海綿骨の量的な分布に応じた分類で、後者は切削感あるいは Hounsfield Unit による X 線吸収値を測定した物理的な数値で、すなわち画像の白黒による客観的な評価といえる。先に示した NIH の骨質の定義を鑑みると、インプラントの骨質分類として提唱されている評価指標は、むしろ骨密度に近いものと感じる。ではインプラント周囲骨組織における骨質とはどういったものか、インプラント周囲骨の骨質に着目したわれわれの研究について紹介することで、理解を深めたい。

図 10 は、ビーグル犬の下顎骨に埋入されたインプラントに、6 か月間咬合荷重を负荷した荷重群と、ヒーリングアバットメントを装着し、荷重负荷を免じた非荷重群の非脱灰研磨標本の光学顕微鏡像を示す。新生骨組織がインプラント体と直接接触している割合を示す骨接触率は、荷重群と非荷重群間に有意差を認めなかったが、骨質の一つの要素である生体アパタイト結晶はインプラント体にかかる荷重の最大主応力方向に近似して配向することが示された(青矢印)<sup>16)</sup>。

さらに詳細なタンパクレベルでの組織解析を行うために、ラット上顎骨にインプラントを埋入し、インプラント体にかかる荷重を規定するために、荷重試験機により一定期間繰り返し荷重を加えたところ、荷重群における骨芽細胞数と骨細胞数の有意な

増加を認め、コラーゲン線維はインプラントスレッドに沿うように配向性を変化させることが明らかとなり、家兎を用いた別の実験では、骨細胞数と骨細胞樹状突起のネットワークを有意に充進することが示された<sup>18)</sup>。

骨微細構造の骨質の要素とされる、生体アパタイト結晶ならびにコラーゲン線維の配向性変化、骨細胞数、ならびに骨細胞樹状突起のネットワークの充進は、荷重応答性の骨質の変化を実証するものといえる。荷重负荷に対してどのようなメカニズムで骨基質の配向性が制御されるのかの詳細は明らかではないものの、共著者の中野らは、オステオカルシンによるコラーゲン線維に対するアパタイト結晶方位の決定<sup>19)</sup>や、PGE2 の骨質変化を介しての骨強度への関与を示唆している<sup>19)</sup>。

生体材料(インプラント)近傍の生体アパタイト結晶ならびにコラーゲン線維の配向には、荷重応答性の変化とともに生体材料表面に沿って配向するという特徴がある<sup>20)</sup>。これは生体材料の形状により、配向性をコントロールできる可能性を示唆するもので、インプラントの機能時、すなわち咀嚼荷重负荷において想定される最大主応力方向への配向性変化を、インプラント埋入時点から先んじて促すことを試みた。インプラントに掛かる荷重の最大主応力方向に沿う角度を付けたスレッドを付与し、荷重時期に着目して実験を行うと、同形状スレッドでは、早期荷重におけるコラーゲンの配向性と組成を顕著に変化させて骨質を向上させるとともに、Sclerostin



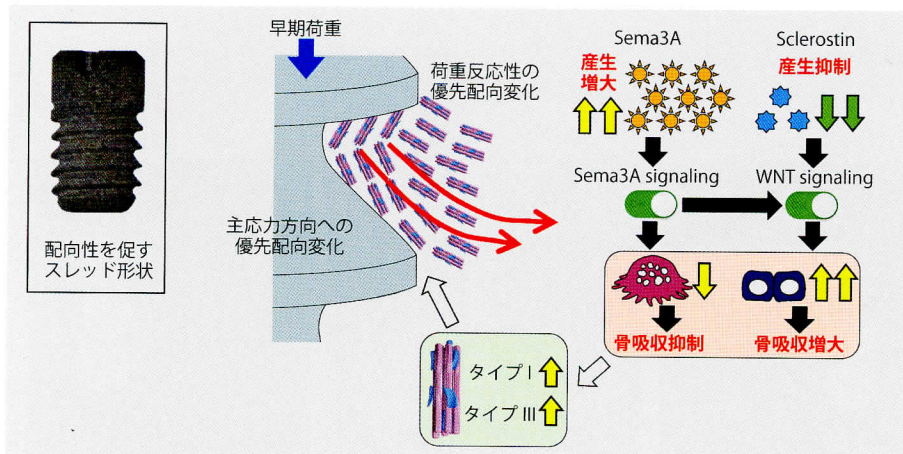


図 11 配向性を促すスレッド形状により，早期から骨量と骨質の向上を認めた

の有意な産生抑制効果，Semaphorin3A とその受容体 Neuropilin1 の産生増大効果により，骨量増大にも寄与することが示された (図 11) <sup>21)</sup>。

## おわりに

運動器と称される，筋・骨格・神経系の中で，機械的刺激に対し鋭敏な応答を示す筋や神経と比較して，骨は一見静的な組織に見えるが，その実かなりダイナミックな組織であることが改めて理解できたと思う。骨は歯科臨床においては，歯やインプラント，そして義歯の支持組織として重要な役割を果たし，とかくその増減が注視される場所である。その量的な調節には，骨細胞がメカノセンサーとメカノトランスダクションの中心的存在であることを述べた。さらに，近年骨強度に関わる要素として注目される骨質について，これまでのスカラー量からベクトル量的荷重応答性の変化を紹介した。荷重応答性の骨質の変化に関しては，まだ解明されていないところが多いものの，骨質制御を誘導する新規生体材料開発の可能性など，新たな展開が期待される。

## 文献

- 1) Wolff J. Das Gesetz der Transformation der Knochen. A Hirschwald, Berlin. Springer-Verlag, 1982.
- 2) Frost HM. Bone "mass" and the "mechanostat": a proposal. Anat Rec. 1987; 219(1): 1-9.
- 3) Schneider VS, et al. Prevention of space flight induced soft tissue calcification and disuse osteoporosis. Acta Astronaut. 1993; 29(2): 139-140.
- 4) Smith SM, et al. Bone metabolism and renal stone risk during International Space Station missions. Bone. 2015; 81: 712-720.
- 5) Bikle DD, et al. Impact of skeletal unloading on bone formation:

role of systemic and local factors. Acta Astronaut. 1994; 33: 119-129.

- 6) Krahl H, et al. Stimulation of bone growth through sports. A radiologic investigation of the upper extremities in professional tennis players. Am J Sports Med. 1994; 22(6): 751-757.
- 7) Qin L, et al. Molecular mechanosensors in osteocytes. Bone Res. 2020; 8: 23.
- 8) Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. NIH Consensus Statement. 2000; 17(1): 1-45.
- 9) NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. JAMA. 2001; 285(6): 785-795.
- 10) Kuroshima S, et al. A paradigm shift for bone quality in dentistry: A literature review. J Prosthodont Res. 2017; 61(4): 353-362.
- 11) Van Rietbergen B, et al. Trabecular bone tissue strains in the healthy and osteoporotic human femur. J Bone Miner Res. 2003; 18(10): 1781-1788.
- 12) Landis WJ. The strength of a calcified tissue depends in part on the molecular structure and organization of its constituent mineral crystals in their organic matrix. Bone. 1995; 16(5): 533-544.
- 13) Albrektsson T, et al. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. Acta Orthop Scand. 1981; 52(2): 155-170.
- 14) Lekholm U, Zarb G. Patient selection and preparation. In: Tissue-integrated prostheses. osseointegration in clinical dentistry. Branemark PI, Zarb G, Alnreltsson T ed. Quintessence, 1985; 199-210.
- 15) Misch CE. Density of bone: effect on treatment plans, surgical approach, healing, and progressive boen loading. Int J Oral Implantol. 1990; 6(2): 23-31.
- 16) Jimbo R, et al. Alignment of biological apatite c-axis under functional loading: a preliminary report. Implant Dent. 2016; 25(5): 594-598.
- 17) Uto Y, et al. Effects of mechanical repetitive load on bone quality around implants in rat maxillae. PLoS One. 2017; 12(12): e0189893.
- 18) Sasaki M, et al. Ultrastructural alterations of osteocyte morphology via loaded implants in rabbit tibiae. J Biomech. 2015; 48(15): 4130-4141.
- 19) Moriishi T, et al. Osteocalcin is necessary for the alignment of apatite crystallites, but not glucose metabolism, testosterone synthesis, or muscle mass. PLoS Genet. 2020; 16(5): e1008586.
- 20) Noyama Y, et al. Design and optimization of the oriented groove on the hip implant surface to promote bone microstructure integrity. Bone. 2013; 52(2): 659-667.
- 21) Suzue M, et al. Controlled mechanical early loads improve bone quality and quantity around implants: An in vivo experimental study. Clin Oral Implants Res. 2022; 33(10): 1049-1067.