

化学工業

CHEMICAL
INDUSTRY

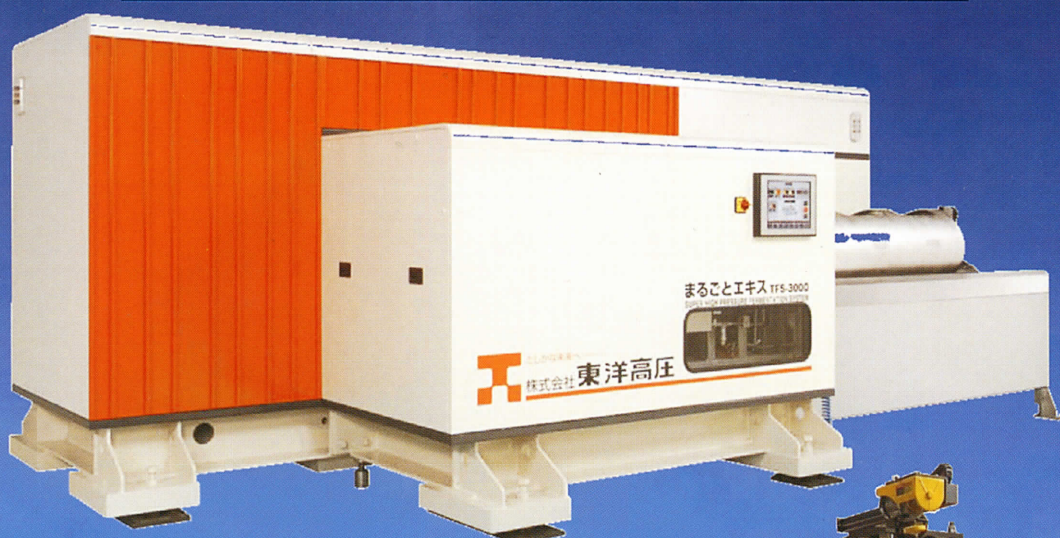
2019

VOL.70 NO.12

12

■特集 / ケモインフォマティクスの新展開

汎用型高圧処理装置



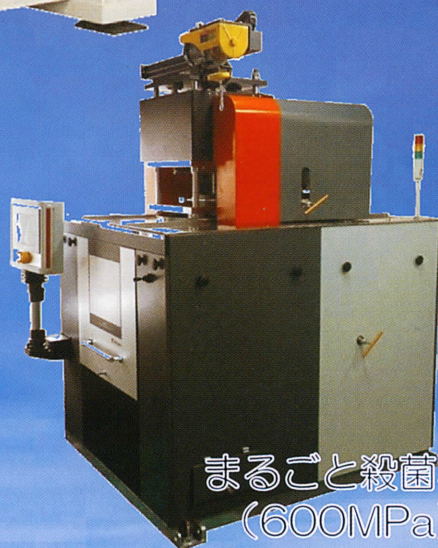
まるごとエキス300L
(100MPa)

高温高圧設備・装置・機器



たしかな未来へ

株式会社 東洋高圧



まるごと殺菌5L
(600MPa)

化学工業社

生体骨における自己組織化現象と代替材料への応用

松 垣 あいら*1・中 野 貴 由*2

1. はじめに

自己組織化能は生命システムを特徴づける機能のひとつであり、生物の分子・細胞～個体、群れに至るまでのマルチスケールでの機能発現に必要な不可欠な特性である。受精卵を出発点とする生物個体は、生体内部での分子間相互作用に加え、外部とのエネルギー・物質の授受に基づき秩序だったネットワーク形成により細胞組織を構築する。とりわけ生体骨は、軟骨原基を起点とし、成長過程で自己

組織化の機能に基づき発達することで、複雑な細胞間および有機・無機成分の相互作用により高機能材料としての機能発現を達成する。構造・機能材料としての骨のはたらきはその微細組織構造に由来し、特に、細胞自発的な自己組織化に基づく骨系細胞間ネットワーク構築およびバイオミネラリゼーション過程による石灰化骨の自己組織化形成の双方が相互に作用することで、骨の構造・機能発現を可能とする(図1)。本稿では、生体骨における自己組織化現象について、とりわけ、骨の異方性(配向性)構造に着目し、個々の細胞が発揮する自己組織化能および石灰化に基づく異方性発現について概説するとともに、生体骨の自己組織化現象を人為的に制御することに

*1 Aira Matsugaki 大阪大学大学院工学研究科マテリアル生産科学専攻 特任講師 博士(工学)

*2 Takayoshi Nakano 同上 教授 博士(工学)

Self-organization in Biological Bone Tissue and Development of Bone Substitute Materials Based on That

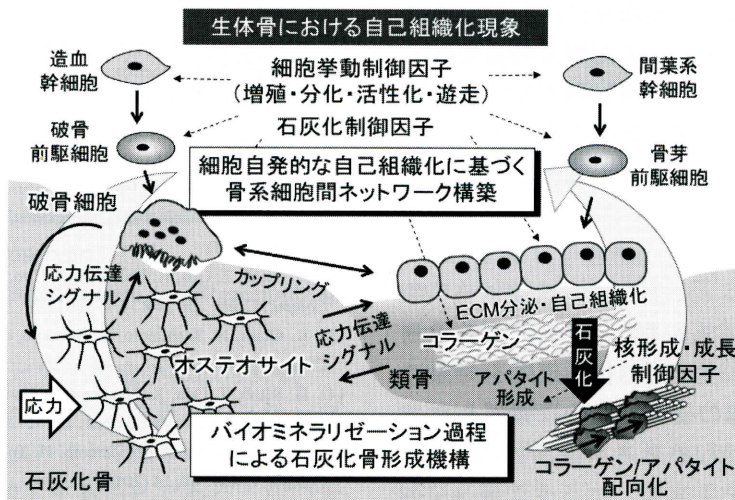


図1 生体骨における自己組織化現象

よる代替材料への応用について紹介する。

2. 生体骨における自己組織化現象

2.1 骨の異方性構造に基づく機能発現

バイオミネラリゼーションは生物が無機化合物を形成する作用を意味し、骨や歯に代表される生体硬組織は精緻な階層構造を有する有機/無機複合化材料として構成される。著者らは、材料科学的立場から骨研究に取り組むことで、コラーゲン線維/アパタイト結晶からなる骨組織が特有の配向化構造を示すことで、特定方位に特異的な力学機能を発揮することを見出している(図2(上))¹⁻³⁾。これは、コラーゲンおよびアパタイトが、ともに高度な力学的異方性を示す構造材料であることに由来する。コラーゲン線維は、3重らせん構造をもつコラーゲン分子が自己組織化したナノスケールの線維状構造体であり、線維方向に沿った強い力学特性を示す。正常骨では、こういった配向化コラーゲン線維上での結晶のエピタキシャル成長に基づき、アパ

タイト結晶 *c* 軸はコラーゲン線維に沿った優先配向性を示す。アパタイトは六方晶系の結晶構造に由来する力学的異方性を有することから、骨はそのコラーゲン線維/アパタイト結晶配向性構造に基づいた力学特性を発揮する。

興味深いことに、骨はその種類や解剖学的部位に応じて異なる配向性を示す。図2(下)には、尺骨、頭蓋骨、下顎骨、腰椎骨の皮質骨部における代表的な3方向でのアパタイト結晶 *c* 軸配向度を示す¹⁾。アパタイト結晶配向性は、微小領域X線回折法による解析に基づき、(002)/(310)回折強度比で示している。尺骨や腰椎骨では重力方向に基づいた一軸的荷重負荷に基づき、骨長軸・頭尾軸に沿った優先配向性を示す。一方、下顎骨は咀嚼荷重に応じた配向性分布を示し、応力分布と骨配向性の密接な関係性を示唆している。こうした発見は、骨が荷重負荷に応じて自己組織的に配向化構造を調節する機構を備え持ち、外部応力に応じてその微細構造を最適配向化することで機能的に適應することを意味して

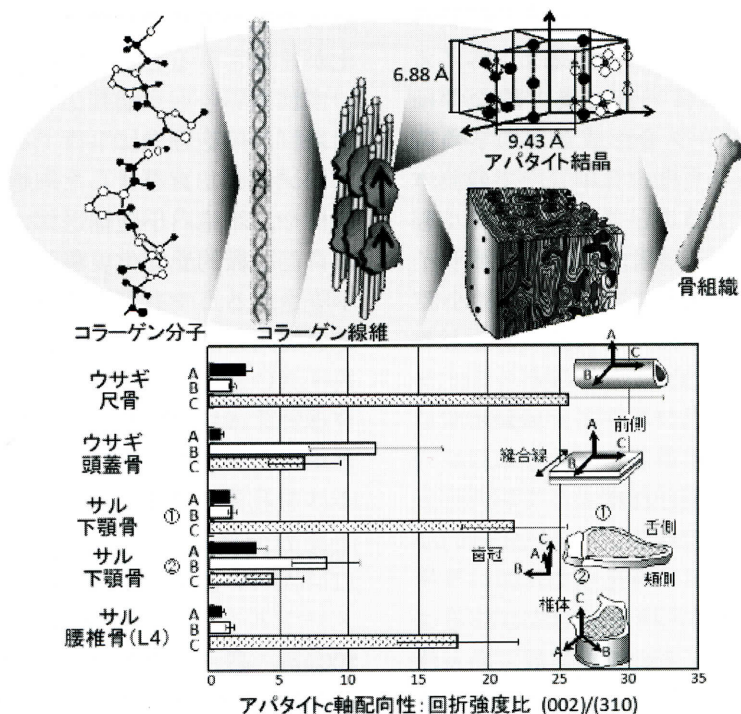


図2 (上)骨の階層的配向化構造, (下)部位に応じた骨アパタイト配向性. 文献1より改変引用

おり、応力センサーとしてのオステオサイト、骨形成を担う骨芽細胞や骨吸収をもたらす破骨細胞といった骨系細胞間での相互ネットワーク構築に基づく自己組織化が、骨機能発現を支配する可能性を示唆している。

2. 2 細胞自発的な自己組織化に基づく異方性バイオミネラリゼーション

細胞集団が自律的に複雑形状の組織・臓器をつくりあげる自己組織化プロセスは、細胞社会での緻密なコミュニケーションに基づき統制されている。骨の配向化組織に関わる細胞の自己組織化も例外ではなく、著者らは骨芽細胞配列パターン化に基づく自己組織化現象が骨異方性構造決定の起点となることを示してきた^{4~7)}。骨形成・骨吸収を繰り返す動的な代謝組織である骨は、骨髄中に間葉系幹細胞・造血幹細胞といった幹細胞を含み、さらにそれらから分化した骨芽細胞、オステオサイトや破骨細胞など多様な細胞集団で構成される。骨芽細胞配列化を導く生物学的因子も実に多様であり、細胞間相互作用に基づく分子授受を介して細胞の秩序配列化が統制されることが明らかになりつつある⁸⁾。特にオステオサイトは骨基質内部で異方的な骨細管-骨小腔ネットワークを形成し、力学負荷により骨に生じるひずみを骨細管内での流体流動を介して感受することで応力シグナルを他細胞へと伝達する。著者らはオステオサイトを介した骨機能適応には骨細管-骨小腔ネットワーク異方性や配列が重要であると考えており⁹⁾、配列化骨芽細胞からオステオサイトへの最終分化過程ならびにオステオサイトによる応力感受を起点とした骨芽細胞配列化統制への寄与が示唆される。

配列化骨芽細胞を起点とした自己組織的なバイオミネラリゼーション過程で骨のコラーゲン/アパタイト配向化構造が形成されることは、単一細胞レベルでの細胞伸展方向・伸展度により規定される骨芽細胞集団の配向度が、形成アパタイトの結晶学的配向性と一致

することからも明らかである⁶⁾。すなわち骨芽細胞は基質表面での細胞接着、伸展にひきつづき、小胞輸送によりコラーゲンを産生し、さらには細胞外でのコラーゲン線維形成は多様な酵素群により制御される。細胞-コラーゲン分子間相互作用はインテグリンを介したリガンド特異的結合により緻密に制御されており、著者らはインテグリンが統制する細胞接着が細胞配向、ひいては基質配向化に積極的に関与し、骨機能化のための自己組織化過程を支配する分子機序を世界に先駆けて見出した¹⁰⁾。

2. 3 生体骨自己組織化誘導のための細胞制御

細胞接着は人工材料と生体との相互作用の起点であり、細胞制御に基づく骨の自己組織化誘導には、材料-細胞界面における細胞接着挙動の能動的制御が必要不可欠である。著者らは、マイクロメートルスケールの表面起伏⁴⁾、ひずみ・応力負荷の異方性⁵⁾、コラーゲン分子配列による化学的な異方性⁶⁾、といった周囲環境の制御により、骨芽細胞配列化が達成されることを見出している(図3)。いずれの場合も、配列化骨芽細胞の構築する骨基質は細胞方向に平行であり、前述のようにインテグリンを介した細胞と基質との接着機構や、細胞内小胞輸送プロセスにより緻密に自己組織的配向化現象が統制されることが示唆される。一方、骨基質の配向化は骨芽細胞の配列方向に沿って形成されるのみならず、興味深いことに、ナノオーダーでの凹凸に対する骨芽細胞の応答は、異なる挙動を示すことが明らかになった⁷⁾。フェムト秒レーザーの干渉を利用して形成したLIPSS(レーザー誘起周期表面構造)を用いることで、金属基板(Ti-6Al-4V合金、Co-Cr-Mo合金)上にナノメートルスケールの配向溝形状(幅およそ500nm、高さおよそ250nm)を付与すると、骨芽細胞は配向溝に沿って配列化する。骨芽細胞配列の決定は、接着斑を介した基板表面

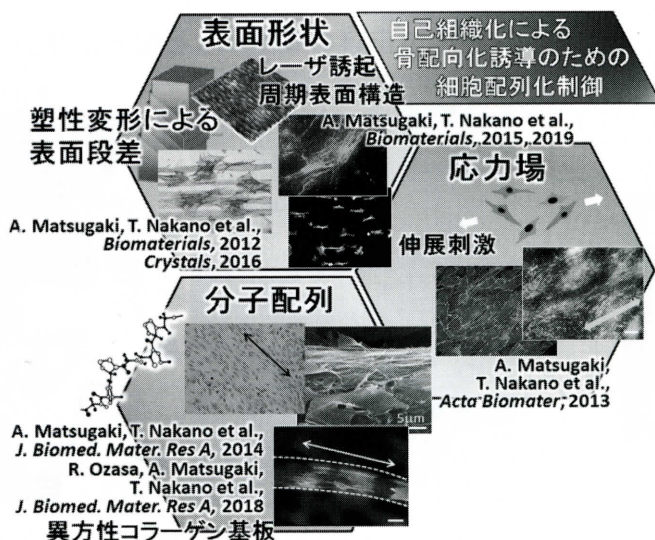


図3 自己組織化による骨配向化誘導のための細胞配列化制御

と骨芽細胞との相互作用に基づき、数100 nm オーダーの凹凸に対して、骨芽細胞は配向溝方向に沿ってインテグリンの集積により巨大に伸張した接着斑を形成した。驚くべきことに、顕微ラマン分光法によるコラーゲン配向性解析および、微小領域 X 線回折法によるアパタイト配向性解析結果より、ナノ配向溝上で形成されたコラーゲンアパタイト c 軸は細胞配列に対して垂直方向へ優先配向しており、すなわち、ナノ配向溝方向に配列化した骨芽細胞の形成する骨基質は細胞配列方向に直交することが初めて明らかとなった。これには溝方向に発達した接着斑構造による細胞の接着安定化作用が関与すると考えている。こういった知見は、これまでの科学的な常識を覆すだけでなく、人工関節等の表面にナノ配向溝構造を与えることで、人工関節周囲に自己組織的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いる。

3. 自己組織化現象に基づく代替材料への応用

疾病や事故により機能破綻した骨の再建のためには、人工関節などの医療用デバイスによる骨再生・配向化誘導が必須である。著者

らは配向化骨誘導には再生初期における細胞配列化が重要であり、骨配向化構造は応力負荷により誘導可能であることを示しており、人工材料周囲骨の応力を制御する配向溝構造の設計により、溝内への配向化骨誘導を可能とするインプラントを実現した¹¹⁾。図4には最大主応力方向に基づく人工股関節インプラントの表面設計を示す。人工股関節ステム表面に -60° , 0° , $+60^\circ$ 方向への配向溝を導入すると、溝角度 $+60^\circ$ 内の骨の主応力ベクトルは溝に平行に、周囲骨の主応力ベクトル方向とほぼ一致した分布を示した。イヌ大腿骨への埋入試験により、期待どおり $+60^\circ$ 溝内でのみ主応力ベクトルに沿った高配向化骨の再建に成功した。これは、骨中のオステオサイトによる応力感受を起点とした自己組織的な骨組織配向化誘導に基づくと考えられ、他の骨系細胞との相互作用に基づき配向化骨形成を誘導する生物学的経路の存在が示唆される⁸⁾。こういった骨配向化促進のための医療用デバイスは、著者らと企業との産学連携によりすでに実用化段階であり、配向化溝を有する人工股関節は2017年に薬事承認され、同コンセプトに基づき骨配向化誘導をも期待できる歯科インプラント (FINESIA ; 京セラ

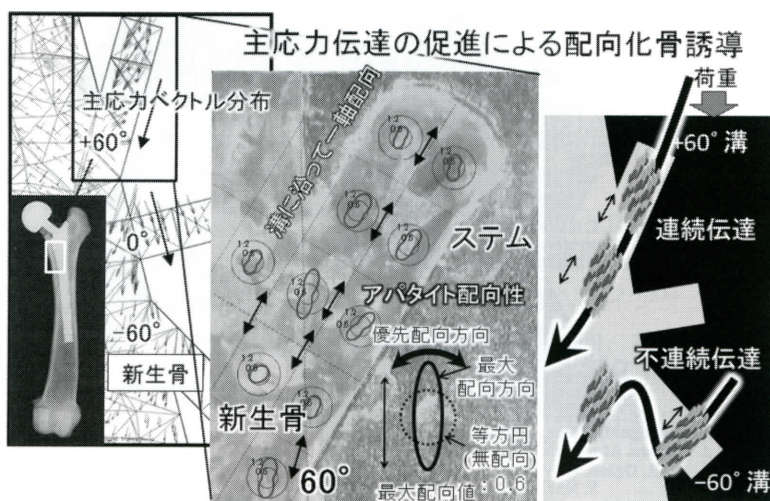


図4 (左)配向溝を有する股関節インプラントの主応力ベクトル分布図(中央)60°配向溝内での配向化骨形成、(右)主応力の流れを継続することで、応力負荷に基づく骨の配向化を実現した。文献11より改変引用

株)がすでに薬事承認・上市されている^{12,13)}。さらに近年では著者らにより金属3Dプリンタやその他の先端的手法を用いることで、金属インプラントの表面形状設計や単結晶による低ヤング率化等を実現している^{14,15)}。

4. おわりに

本稿では、骨の健全な力学機能発揮に必要不可欠であるコラーゲン/アパタイト配向化構造に注目して、自己組織化による骨配向化過程、さらには骨自己組織化誘導のためのインプラントデザインへの応用について紹介した。これまでの骨医療には存在しえない概念であった骨配向性を考慮したインプラントの実現は、骨の「量や密度」から「質」へと視点を変える医療革新を導くものと期待している。著者らのこれまでの研究により、生体骨の自己組織化現象は細胞間の緻密なコミュニケーションに基づく配列化制御、さらには異方性バイオミネラリゼーション過程により支配されることが明らかになりつつある。こうした骨の自己組織化による配向化に基づく機能適応を理解することで、構造・機能材料としての骨の真の機能化を実現可能な医療への展開を目指している。

謝辞

本稿で紹介した研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(S)「骨異方性誘導のための「異方性の材料科学」の構築」(研究代表者：中野貴由)(平成30年度～令和4年度)の支援により実施された。

参考文献

- 1) Nakano T, Kaibara K, Tabata Y, Nagata N, Enomoto S et al.: Unique alignment and texture of biological apatite crystallites in typical calcified tissues analyzed by micro-beam X-ray diffractometer system. *Bone*, 2002, **31**: 479-487.
- 2) Ishimoto T, Nakano T, Umakoshi Y, Yamamoto M, Tabata Y: 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.
- 3) Nakano T, Kaibara K, Ishimoto T, Tabata Y, Umakoshi Y: 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.
- 4) Matsugaki A, Aramoto G, Nakano T: The alignment of MC3T3-E1 osteoblasts on steps of slip traces introduced by dislocation motion. *Biomaterials*, 2012, **33**: 7327-7335.
- 5) Matsugaki A, Fujiwara N, Nakano T: Continuous cyclic stretch induces osteoblast alignment and formation of anisotropic collagen fiber matrix. *Acta Biomater.*, 2013, **9**: 7227-7235.
- 6) Matsugaki A, Isobe Y, Saku T, Nakano T: 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.

- 7) Matsugaki A, Aramoto G, Ninomiya Y, Sawada H, Nakano T: 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.
- 8) 中野貴由：異方性の材料科学に基づく骨基質配向化の解明と制御, バイオマテリアル—生体材料—, 2017, **35**: 10-13.
- 9) Nakano T, Ishimoto T, Ikeo N, Matsugaki A : Advanced analysis and control of bone microstructure based on a materials scientific study including microbeam X-ray diffraction, Progress in Advanced Structural and Functional Materials Design (Kakeshita T ed.), Springer, 2012, pp.155-167
- 10) Nakanishi Y, Matsugaki A, Kawahara K, Ninomiya T, Sawada H, Nakano T: Unique arrangement of bone matrix orthogonal to osteoblast alignment controlled by Tspan11-mediated focal adhesion assembly, *Biomaterials*, 2019, **209**: 103-110.
- 11) Noyama Y, Nakano T, Ishimoto T, Sakai T, and Yoshikawa H: *Bone*, 2013, **52**: 659-667.
- 12) 中野貴由, 石本卓也：材料学的視点からの骨基質配向性構造の解明ならびに骨配向化促進に向けた骨代替材料の開発, 応用物理 2018, **10**: 759-763
- 13) Kuroshima S, Nakano T, Ishimoto T, Sasaki M, Inoue M, Yasutake M, Sawase T: Optimally oriented grooves on dental implants improves bone quality around implants under repetitive mechanical loading, *Acta Biomater.*, 2017, **48**: 433-444
- 14) Hagihara K, Nakano T, Maki H, Umakoshi Y, Niinomi M: *Sci. Rep.*, 2016, **6**: srep29779.
- 15) Ishimoto T, Hagihara K, Hisamoto K, Sun SH, Nakano T: *Scripta Mater.*, 2017, **132**: 34-38.