

地域 ケアリンク

特集

ポストコロナ禍の経営戦略

第45回医療・福祉フォーラム

特集編集
京極高宣
国立社会保障・人口問題研究所名誉所長

12

臨時増刊号
2021 Vol.23 No.13

基調講演

「ポストコロナの経営戦略～地域生活課題に向き合う～」

古都 賢一 (社会福祉法人全国社会福祉協議会 副会長)

シンポジウム

「ポストコロナ禍を見据えて地域社会を守り抜く経営戦略を考える」

アドバイザー: 橋本 敬史 (厚生労働省 老健局 総務課長)

コーディネーター: 鈴木 史郎 (社会福祉法人 全国社会福祉協議会 法人振興部長)

川西 基雄 (社会福祉法人 サンシャイン会 理事長)

堤 洋三 (社会福祉法人 六心会 理事長)

野田 毅 (社会福祉法人 東北福祉会 本部事務局次長)

フォーラム資料



ポストコロナ時代の骨質医療革新

～コラーゲン／アパタイト配向性に基づく個別化骨医療～

Medical treatment for bone diseases based on collagen/apatite orientation as an index of bone quality parameters in the post COVID-19 era

松垣 あいら¹⁾ Aira Matsugaki 石本 卓也²⁾ Takuya Ishimoto
小笹 良輔¹⁾ Ryosuke Ozasa 中野 貴由¹⁾ Takayoshi Nakano

1) 大阪大学大学院 工学研究科 Graduate School of Engineering, Osaka University

2) 富山大学 都市デザイン学部 School of Sustainable Design, University of Toyama

概要

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の世界的感染拡大により、医療体制は大きな変革を求められている。世界最高の高齢化率を有する日本が、ポストコロナ時代のエイジレス社会を実現するためには、AI (Artificial intelligence; 人工知能)・デジタル化を有効活用した高度個別化医療の推進が求められる。とりわけ高齢者のQOL (Quality of life; 生活の質) に直結する骨格系は患者個々における個人差が大きく、患者ごとにフィットした骨・骨関節治療および医療デバイス創製が必要とされる。病態や遺伝的背景に応じて求められる生体機能を最適化するには、骨機能化の因子をモニタリングしつつ、治療効果を最大限に発揮するための骨医療デバイスのカスタム化が重要である。骨質因子のひとつであるコラーゲン線維／アパタイト結晶からなる骨基質の優先配向方向や配向の程度は、骨機能を支配する極めて重要な骨質因子のひとつである。骨配向化は生物学的機序に則り緻密に制御されており、筆者らは、いくつかの重要な骨配向化特異的因子を発見している。こういった生体内での生物学的機序理解に基づき骨配向化を実現するためには、デバイス／生体組織界面でその異质性を誘導する材料開発が求められる。骨質に関する個別化医療実現のためには、個人の骨格形状や疾患状態に応じて配向化を回復させる手段としての金属積層造形法が目される。本稿では、骨基質のコラーゲン／アパタイトの配向性に基づいた骨質医療のカスタム化実現を目指した、骨配向化機序の理解およびそれに基づく金属積層造形法の骨治療デバイスへの活用について解説する。

はじめに

骨の個別化医療実現には骨強度を予測し、病態や骨格に応じた治療薬および治療デバイスの選択が求められる。NIH (米国国立衛生研究所) より、骨強度の予測にはBMD (骨密度) 以外の骨強度を表す指標としての「骨質」パラメータの探索が必要であることが2000年に提言された⁽¹⁾。それ以来、骨質指標として、骨梁構造、コラーゲン架橋、細胞活性、マイクロクラックなど様々な骨質指標が模索されてきた。筆者らは材料科学的視点から、骨基質としてのコラーゲン線維／アパタイト結晶の3次元的配列を意味する骨基質配向性に注目し、その優先配向方向や配向の程度が骨質指標の一つとして極めて重要であることを示してきた⁽⁸⁾。つまり疾患骨や再生骨の機能・強度診断には、従来から用いられているBMDの評価だけでは不十分であり、骨中のアパタイト結晶がもつ極めて異方性の強い六方晶系をベースとする構造に注目すべきである。すなわち、骨基質中のアパタイト結晶のc軸配向性とそれとほぼ平行に走行する

I型コラーゲンの配列が、骨組織の力学機能に代表される諸特性を支配する骨質指標となりうる^(8,9)。

本稿では、骨基質配向性の変化とその形成機構、さらには最新の金属積層造形技術を含む配向化の維持や制御のための方策について、骨基質配向化のカスタム化制御の重要性の観点から筆者らのグループにおける最新の知見に基づき紹介する。

1. アパタイト結晶配向性を指標とした骨質評価

正常骨は、図1に示すように、解剖学的部位に応じた特異なアパタイト結晶のc軸配向性を示す⁽⁸⁾。その特徴は、(1) 尺骨、下顎骨、腰椎骨では、それぞれ、骨軸方向、近遠心方向、頭尾軸方向に沿った1軸配向性を示す、(2) 頭蓋骨では、骨面に沿った2次元配向性を示し、縫合線や骨成長にも影響を受ける、(3) 咀嚼荷重の影響を受ける歯冠直下の下顎骨部では、咀嚼にともなう局所応力分布を反映し変化する、(4) 海綿骨では、骨代謝回転に応じて骨梁に沿ったパケット構造に従ってc軸

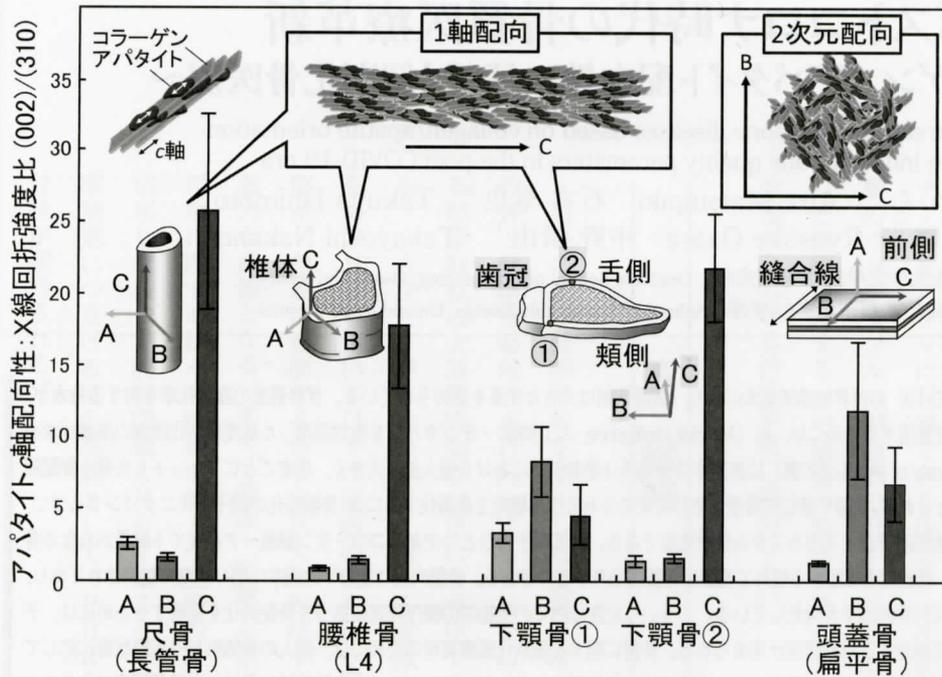


図1 皮質骨における特異なアパタイト結晶c軸の解剖学的部位依存性。正常な皮質骨では、*in vivo* 応力に依存して異方性アパタイト結晶の骨基質内での配向性が決定される。文献⁸⁾から改変引用。

配向性が形成される、などがある⁸⁾。すなわち正常な皮質骨や海綿骨では、*in vivo* 応力に適応したコラーゲン/アパタイトの優先配向性を示し、力学機能の必要性に応じた骨微細構造を構築する。とりわけ、最大主応力ベクトル分布が3次元での配向性を構築することから、正常骨の配向分布は応力成分の影響を強く受ける骨質指標といえる。

アパタイト配向性は、再生骨の機能評価手法としても極めて有効である^{9,11)}。図2には、最先端の再生医療手法としての骨形成タンパク質rhBMP2徐放による長管骨大欠損部での骨再生過程を示す。アパタイト結晶のc軸配向性を指標とすることで、(1)骨配向性指標の回復はBMD再生に大きく遅れることから、BMDでは代替することはできない、(2)骨

力学機能は、BMDよりも、骨基質配向性との間に強い相関を示すこと、などが理解できる。この場合、力学機能は概ね7割がアパタイト配向性により支配されることから、新生骨形成過程にて、アパタイト配向性の重要性は極めて大きい。この際、メカノセンサー細胞としてのオステオサイト(OCY: Osteocyte)が、骨基質配向性の制御に対し重

要な役割を担う¹²⁾。

多様な疾患骨においても、アパタイト配向性が敏感に変化することが解明されつつある^{13,16)}。変形性膝関節症では、軟骨消失部での関節面法線方向への骨基質配向性は有意に上昇する¹³⁾。骨粗鬆症では、原発性骨粗鬆症と続発性骨粗鬆症(Ca欠乏食)のラット腰椎骨とともに骨量やBMDの低下を示すが、配向性の変動方向が全く異なる¹⁶⁾。こうした知見は、骨粗鬆症治療薬等の薬効評価にも有用であり、薬剤投与後の骨質改善効果の検証が可能となる¹⁷⁾。

2. アパタイト配向性に影響を与える多様な因子

アパタイト結晶は六方晶系の異方性構造を持ち、その配向性はコラーゲン線維の走行方向に対応しつつ¹⁸⁾、変化する。図3に示すように、疾患、骨再生や遺伝子変異等の様々な要因が、骨基質配向性に影響を与えることが理解されてきた^{9,13,16,19,21)}。骨基質配向性は、*in vivo* 応力をはじめとする外部環境、生体内環境さらには骨代謝回転などと密接に関係し、骨形成を担う骨芽細胞(OB: Osteoblast)、骨吸収を担う破

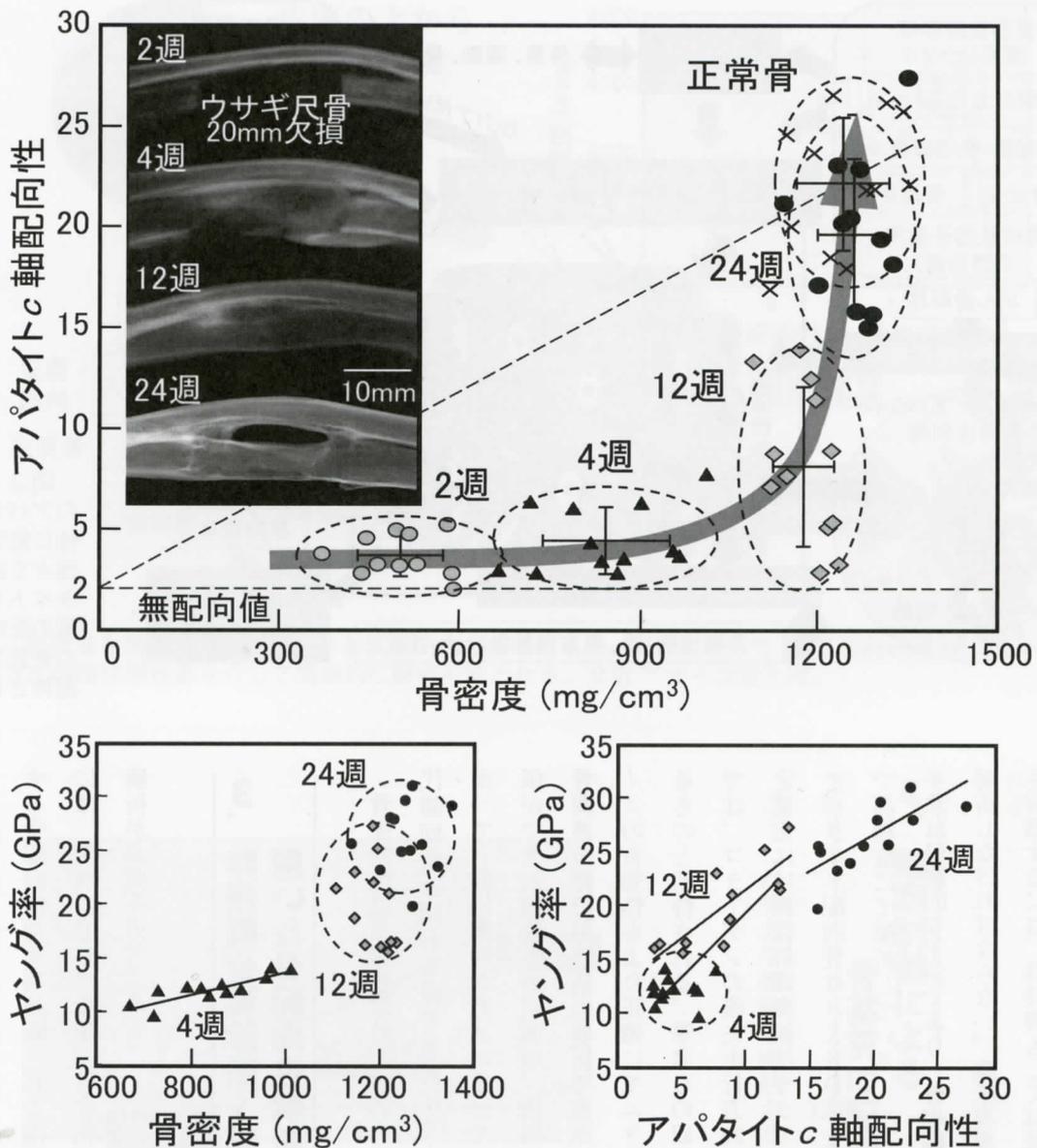


図2 ウサギ尺骨大欠損部における rhBMP2 徐放による骨密度 (BMD) とアパタイト *c* 軸配向性の骨再生にともなう変化過程。アパタイト配向性は BMD の再生に遅れて回復し、ヤング率 (骨強度の一種) はアパタイト *c* 軸配向性に強く支配される。文献¹¹⁾ から改変引用。

骨細胞 (OC: Osteoclast) *in vivo* 応力を受する OCY の細胞レベルでの働きに強く支配される。現在では情報伝達をつかさどる分子レベル、遺伝子レベルからの骨基質配向化機序や配向化支配因子の解明へと研究が進展している。とりわけ遺伝子機能を変異させたノックアウト (KO)、トランスジェニック (Tg) (動物などを用いることで、骨系細胞レベルでの骨基質配向性制御機構の解明が可能になる。KOやTg動物の作製は骨系細胞の機能や分化を制御し、配向性に及ぼす遺伝子や骨系細胞の役割を解明する糸口になる。中でも、M-CSF (Macrophage Colony-Stimulating Factor)、OPG (Osteoprotegerin)、*c-fos*、*c-src* などのOCの分化・機能化制御遺伝子を欠損した骨解析から、骨基質配向性にとって骨吸収を担うOCの役割が極めて重要であることが示された^(14,19)。すなわち、骨芽細胞による骨配向化誘導には、活性化破骨細胞由来の特定のクラストカインの存在が必須となる。さらに、これまで破骨・骨芽細胞の分化や活性化の調整因子であると理解されていた遺伝子やタンパク質が、実際には重要な骨配向化制御因子として機能することが明らかとなり、

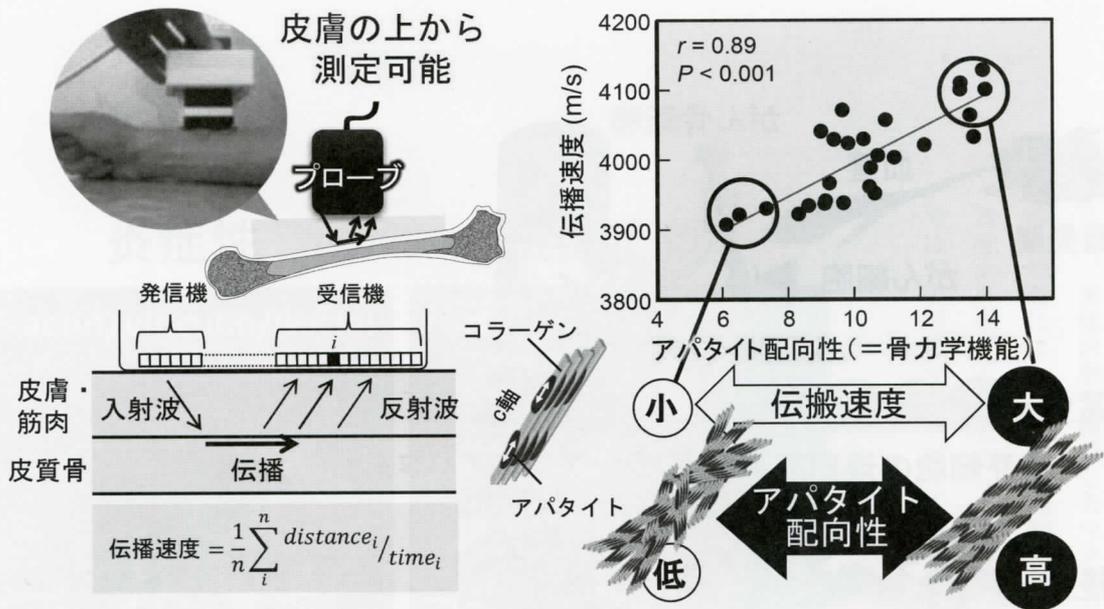


図4 超音波を用いた非侵襲的な骨基質配向性の新解析手法。骨軸に沿ったSOS (Speed of Sound) により骨基質配向性は弾性率を介して間接的に評価可能となる。文献²³⁾から改変引用。

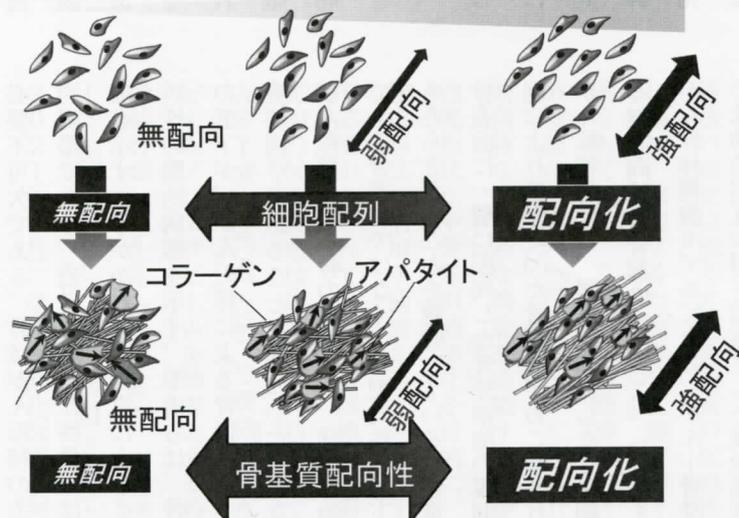
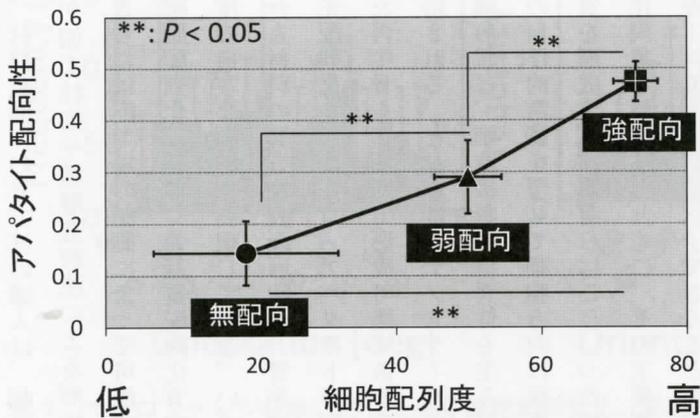


図5 骨芽細胞配列の度合・方向の制御により、骨配向性を自由自在にコントロール可能である。(文献²⁷⁾より改変引用)。

い骨強度や骨代謝回転を反映した骨質指標の一つとして今後の臨床現場での応用が期待される。

4. 細胞制御による

骨基質の配向化誘導

こうした骨力学機能に直結するアパタイト

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5)²⁷⁾。骨芽細胞はコラーゲン産生とその後の石灰化プロセスを担い、その配列化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。すなわち、基板の異方性制御に基づき、任意の骨配向性を得ることが可能と

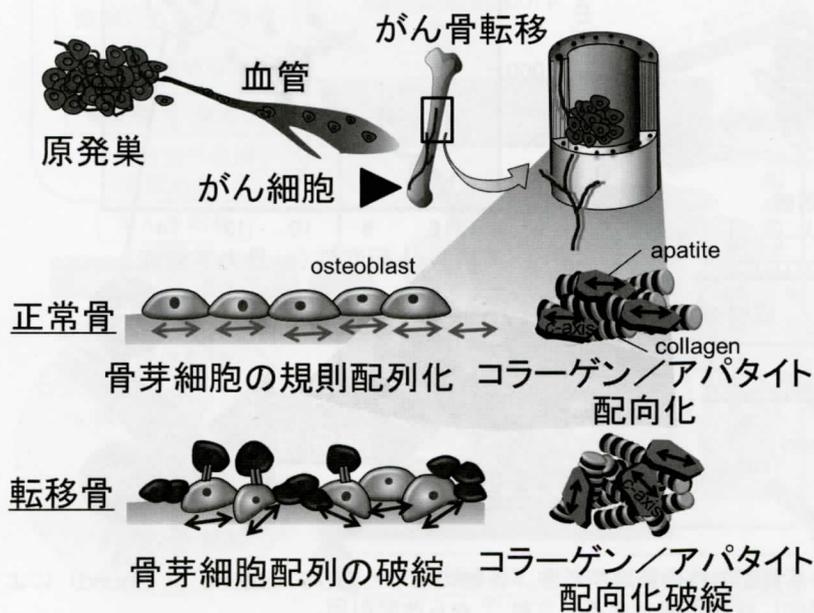
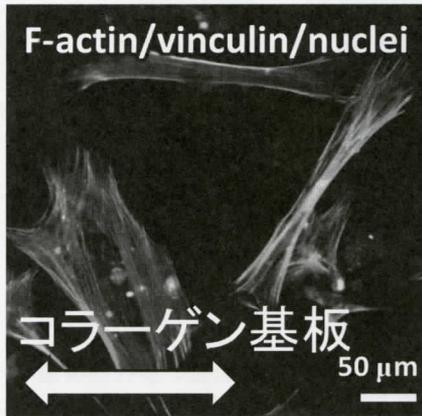


図6 がん転移による骨の脆弱化は、骨芽細胞—がん細胞間での直接接触を起点とした配向化異常によりもたらされる。(文献³²⁾より改変引用)。

なる。材料表面への異方性の導入は、超高速レーザ加工技術や積層造形法による形状制御²⁸⁾、さらには応力場の制御²⁹⁾によって可能であり、細胞配列化に基づく骨基質配向化方向や配向度の自在な制御を実現している。いずれの場合も材料の異方性表面形状が、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ことが期待される。とりわけ、ナノスケールの一方方向溝形状は、細胞接着の特異性を生み出し、従来の科学的常識を覆して細胞方向に垂直に骨基質を形成する。筆者らはこういった特異垂直化現象を見出すとともに、その主要制御因子がTspan11遺伝子であることを発見し、骨基質配向化の分子機序理解は飛躍的な進展をみせている³⁰⁾。正常骨ではこういった骨配向化の生物システムによる骨機能化が統制される一方で、細胞の異常化は重篤な骨劣化をもたらし、その多くが骨の異方性微細構造破綻に起因することが近年明らかになりつつある。

がんは正常細胞の遺伝子変異により異常化した細胞集団がもたらす疾患であり、がん種や患者の遺伝的背景により治療法の最適化が必要不可欠である。骨はがん転移の主要な標的臓器であり、造骨性がん転移骨では高骨密度を示すにもかかわらず非常に易骨折性の難治病態を示す。筆者らは、骨配向性の低下が、がん転移による骨折リスク上昇の重要因子であることを発見した³¹⁾。すなわち、がん転移による骨の脆弱化が、従来の治療指標である骨密度ではなく、骨配向性の低下によりもたらされることを意味している。正常骨では骨表面に一層に配列した骨芽細胞の規則的な作用により秩序だった骨形成がおこなわれた一方、がん転移骨では、異常配列化した骨芽細胞による無方向性の骨形成を生じた。In vitro配向化がん転移模倣モデルにより、がん—骨芽細胞間では動的相互作用を起点とした細胞間結合の形成が骨芽細胞配列化低下による骨機能不全を招くことが見出された(図6)³²⁾。こういったがん転移による骨脆弱化に加えて、近年では感染・免疫の生体防御機構と骨脆弱化の関連も明らかになりつつある。新型コロナウイルス感染症重症化を引き起こす原因タンパク質のひとつであるインターロイキン6(IL-6)は、生体恒常性維持に必須のサイトカインであるが、その過剰産生は関節リウマチや関節炎等

炎症性



抗炎症性

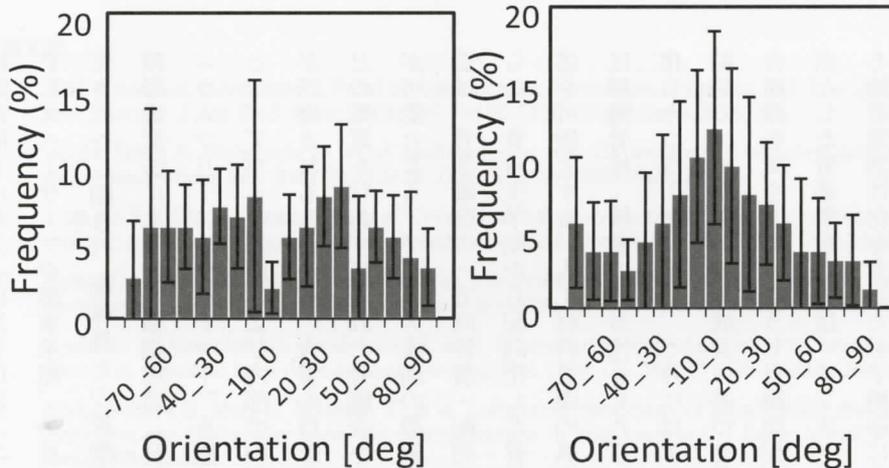
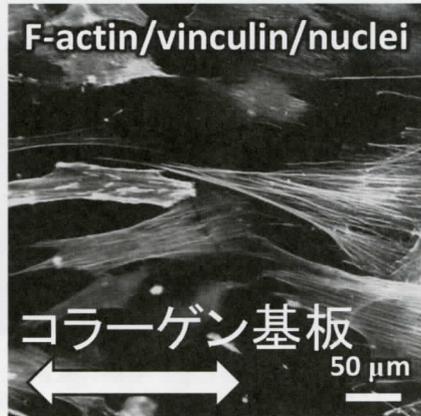


図7 マクロファージ状態に応じた骨芽細胞配列変化。炎症性マクロファージは骨芽細胞配列化を破綻させる。(文献³³⁾より改変引用)。

の疾患の引き金となり、炎症や骨破壊をもたらす。炎症状態を模擬したマクロファージとの共培養により、骨芽細胞配列は乱れ、骨基質配向性劣化をもたらす(図7)。炎症状態では、炎症性マクロファージがIL-1、6を介

して骨芽細胞を攻撃し、その細胞骨格構造を変化させることで、配列化不全により骨の機能を低下させる可能性を示している³³⁾。こうした発見は、がん転移や、将来的には関節リウマチに代表される免疫疾患による骨機能不全

を防ぐ創薬や感染症治療の現場で新たなターゲットを提示できる可能性を示している。さらには、骨配向性を基軸にした患者ごとに機能するカスタム金属人工関節材料の開発につながる事が期待される。

5. 金属積層造形法による個別化骨質誘導デバイス開発

骨質指標の一つとしての骨基質配向性の評価法の確立に加えて、骨基質の配向性を健全に維持・修復するための骨医療デバイスが提案されている^{34,35)}。こうした骨医療デバイスは骨系細胞の一方方向への誘導や *in vivo* 応力の人為的負荷など多彩な機能を搭載する必要があり、複雑形状化や骨類似機能化^{27,28)}を目的に、金属積層造形法の活用が検討され、一部はすでに臨床応用がなされている。金属積層造形法は最先端の付加製造技術として注目されており、ASTM (F2792-12a) で規格化された電子ビーム/レーザービームを熱源とする粉末床溶解融結法 (powder bed fusion) が骨医療デバイス開発に対し、主に活用されている。2021年4月には骨配向化誘導が可能な脊

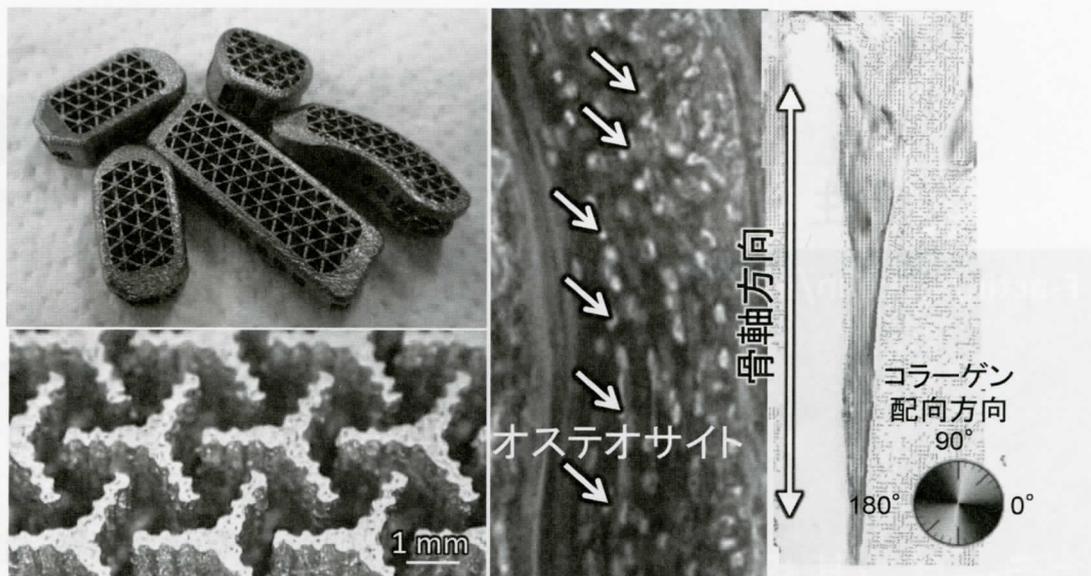


図8 配向性に着目した脊椎固定用デバイス。(左) 早期の配向化骨形成を期待する新しい多孔体構造 (HTS/ハニカムツリーストラクチャー)。(中央) デバイス埋入により、頭尾軸方向にオステオサイトが優先配列化し、(右) 配向化したコラーゲン線維を形成する。(文献³⁷⁾より改変引用)。

椎固定用デバイス「UNIOS (ユニオス) PLSペーサー」が薬事承認、7月には上市化された(図8)³⁶。椎体骨との接触面に金属積層造形法による特殊微細構造 (HTS/ハニカムツリーストラクチャー) を設計することで、デバイス表面および内部での配向化骨が誘導されることから、大量の自家骨移植などの処置を行わずに優れた骨癒合を得ることが可能となる。デバイス表面の微細配向溝構造は、骨芽細胞の一方方向伸展・配列化をもたらす、骨再生早期から配向化した骨組織の再建を可能とする³⁷。人工材料表面の異方性構造は細胞骨格・接着の異方性をもたらす、配向化したコラーゲン産生、さらにはアパタイト結晶のエピタキシャル成長²⁰に基づき骨基質集合組織形成を導く。こうした細胞配列化を起点とした骨基質配向化は、インテグリンによる接着斑活性化を介した分子機序により制御され、遺伝子レベルから配向化のコントロール^{22, 38}をも可能である。

金属積層造形法は、他の積層造形技術と同様に外部・内部形状を任意に造形可能であり、現状ではポア等の欠陥がわずかに残存する場があるものの、力学特性は鋳造材と鍛造材

の間に位置し、既に臨床応用されているものも多い。本邦においても、人工関節部品や頭蓋骨プレートなどへの適用が始まっている。金属積層造形法のPMDA認可に関わるガイドライン作成は、平成25年度次世代医療機器・再生医療等評価指標作成事業(三次元積層造形技術を活用した整形外科用インプラントに関する評価指標)にて進められ、薬食機参発0912第2号(平成26年9月12日)をはじめとした評価指標が発令されている。

さらに現状の骨・骨関節用インプラントは患者の平均骨格に基づいていることから、骨格との完全な一致が図られず、形状不一致による骨格形状への不適合がしばしば生じる。近年ではAIを用いた画像診断によるデジタル医療も大きな進展をみせており、患者のCTデータに基づき3次元外形形状をフィットさせた患者毎にカスタマイズされた骨・骨関節用インプラントの開発が進められている³⁹。近未来におけるサイバー空間とフィジカル空間の技術が高度に融合したDX社会においては、骨構造・機能評価とそのデジタル化に基づく最適インプラント設計、設計図に従った医療デバイス創製のための金属積層造形技術、さ

らにはオンライン診断や個別医療データ管理による遠隔治療などのデジタルヘルス実現に向けた取り組みが加速的に進展している。

おわりに

ポストコロナ時代の医療は、デジタル化を最大限活用した個別化医療の推進が鍵を握るとりわけQOL向上に直結する骨質健全化は、コラーゲン線維の走行とそれに関連するアパタイト結晶の配向性を骨質指標として用いることにより、近未来の医療現場にて評価可能となる。in vivo 応力や骨代謝に敏感な骨基質の配向性は、BMDや他の骨質指標に加えて重要な指標であり、非侵襲的な解析手法も確立されつつある。加えて、骨健全性の評価にとどまらず、骨基質配向性を促進・最適化を目的にした骨医療デバイスの研究・開発も進められており、骨量やBMDをベースとしたスカラー医療から、骨基質配向性を基軸としたベクトル医療へと変革する時期が近づきつつある。そのためには金属積層造形法による高度骨質カスタム化を実現した新たな医療デバイスの開発が期待される。

引用文献

- (1) NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. J Am Med Assoc, 2001; 285: 785-95. DOI: 10.1001/jama.285.6.785.
- (2) Ito M, Ikeda K, Nishiguchi M, et al. Multi-detector row CT imaging of vertebral microstructure for evaluation of fracture risk. J Bone Miner Res, 2005; 20: 1828-36. DOI: 10.1359/JBMR.050610.
- (3) Yamada S, Chiba K, Okazaki N, et al. Correlation between vertebral bone microstructure and estimated strength in elderly women: An ex-vivo HR-pQCT study of cadaveric spine. Bone, 2019; 120: 459-64. DOI: 10.1016/j.bone.2018.12.005.
- (4) Saito M, Marumo K. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: A possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. Osteopor Int, 2010; 21: 195-214. DOI: 10.1007/s00198-009-1066-z.
- (5) Amizuka N, Karaplis AC, Henderson JE, et al. Haploinsufficiency of parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) results in abnormal postnatal bone development. Develop Biol, 1996; 175: 166-76. DOI: 10.1006/dbio.1996.0104.
- (6) Komatsubara S, Mori S, Mashiba T, et al. Long-term treatment of incadronate disodium accumulates microdamage but improves the trabecular bone microarchitecture in dog vertebra. J Bone Miner Res, 2003; 18: 512-20. DOI: 10.1359/jbmr.2003.18.3.512.
- (7) Donnelly E. Methods for assessing bone quality: A review. Clin Orthop Rel Res, 2011; 469: 2128-38. DOI: 10.1007/s11999-010-1702-0.
- (8) Nakano T, Kaibara K, Tabata Y, et al. Unique alignment and texture of biological apatite crystallites in typical calcified tissues analyzed by microbeam X-ray diffractometer system. Bone, 2002; 31: 479-87. DOI: 10.1016/s8756-3282(02)00850-5.
- (9) Nakano T, Kaibara K, Ishimoto 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: 741-7. DOI: 10.1016/j.bone.2012.07.003.
- (10) Lee JW, Yun HS, Nakano T. Induction of biological apatite orientation as a bone quality parameter in bone regeneration using hydroxyapatite/poly ε-caprolactone composite scaffolds. Tissue Eng C, 2016; 22: 856-63. DOI: 10.1089/ten.TEC.2016.0133.
- (11) Ishimoto T, Nakano T, Yamamoto M, et al. Degree of biological apatite c-axis orientation rather than bone mineral density controls mechanical function in bone regenerated using recombinant bone morphogenetic protein-2. J Bone Miner Res, 2013; 28: 1170-9. DOI: 10.1002/jbmr.1825.
- (12) Nakano T, Ishimoto T, Ikey N, et al. 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 (Ed. T. Kakeshita), Springer, Tokyo, 2012. DOI: 10.1007/978-4-431-54064-9_13.
- (13) Lee JW, Kobayashi A, Nakano T. Crystallographic orientation of the c-axis of biological apatite as a new index of the quality of subchondral bone in knee joint osteoarthritis. J Bone Miner Metab, 2017; 35: 308-14. DOI: 10.1007/s00774-016-0754-y.
- (14) Ishimoto T, Lee JW, Nakano T, et al. Co-deteriorations of anisotropic extracellular matrix arrangement and intrinsic mechanical property in c-src deficient osteopetrotic mouse femur. Bone, 2017; 103: 216-23. DOI: 10.1016/j.bone.2017.06.023.
- (15) Sekita A, Matsugaki A, Nakano T. Disruption of collagen/apatite alignment impairs bone mechanical function in osteoblastic metastasis induced by prostate cancer. Bone, 2017; 97: 83-93. DOI: 10.1016/j.bone.2017.01.004.
- (16) Ozasa R, Ishimoto T, Nakano T, et al. Osteoporosis changes collagen/apatite orientation and Young's modulus in vertebral cortical bone of rat. Calcif Tissue Int, 2019; 104: 449-60. DOI: 10.1007/s00223-018-0508-z.

- (17) Shiraishi A, Miyabe S, Nakano T, *et al.* The combination therapy with alfacalcidol and risedronate improves the mechanical property in lumbar spine by affecting the material properties in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *BMC Musculoskelet Disord*, 2009; 10: paper #66. DOI: 10.1186/1471-2474-10-66.
- (18) 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: 533-44. DOI: 10.1016/8756-3282(95)00076-p.
- (19) Lee JW, Nakano T, Toyosawa S, *et al.* Areal distribution of preferential alignment of biological apatite (BAp) crystallite on cross-section of center of femoral diaphysis in osteopetrotic (op/op) mouse. *Mater Trans*, 2008; 48: 337-42. DOI: 10.2320/jinstmet.72.85.
- (20) Moriishi T, Ozasa R, Nakano 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. DOI: 10.1371/journal.pgen.1008586.
- (21) Hirose K, Ishimoto T, Toyosawa S, *et al.* Overexpression of Fam20C in osteoblast in vivo leads to increased cortical bone formation and osteoclastic bone resorption. *Bone*, 2020; 138: 115414. DOI: 10.1016/j.bone.2020.115414.
- (22) Suetoshi R, Cretin D, Nakano T. Analysis of the change in bone quality in the bone surrounding the femoral implant after the introduction of human artificial hip joint using ultrasound. *Jpn J Clin Biomech*, 2013; 34: 123-8.
- (23) Ishimoto T, Suetoshi R, Nakano T, *et al.* Quantitative ultrasound (QUS) axial transmission method reflects anisotropy in micro-arrangement of apatite crystallites in human long bones: A study with 3-MHz-frequency ultrasound. *Bone*, 2019; 127: 82-90. DOI: 10.1016/j.bone.2019.05.034.
- (24) Minonzio JG, Bochud N, Vallet Q, *et al.* Bone cortical thickness and porosity assessment using ultrasound guided waves: an ex vivo validation study. *Bone*, 2018; 116: 111-9. DOI: 10.1016/j.bone.2018.07.018.
- (25) Kashii M, Hashimoto J, Nakano T, *et al.* Alendronate treatment promotes bone formation with a less anisotropic microstructure during intramembranous ossification in rats. *J Bone Miner Metab*, 2008; 26: 24-33. DOI: 10.1007/s00774-007-0782-8.
- (26) 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2015 年版, 2015.
- (27) Matsugaki A, Isobe Y, Saku T and Nakano T. Quantitative regulation of bone-mimetic, oriented collagen/apatite matrix structure depends on the degree of osteoblast alignment on oriented collagen substrates, *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*, 2015; 103: 489–499. DOI:10.1002/jbm.a.35189
- (28) Matsugaki A, Aramoto G, 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: 134-43. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.10.025.
- (29) Matsugaki A, Fujiwara N, Nakano T. Continuous cyclic stretch induces osteoblast alignment and formation of anisotropic collagen fiber matrix, *Acta Biomaterialia*, 2013; 9:7227–7235. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.03.015.24)
- (30) Nakanishi Y, Matsugaki A, Nakano T. Unique arrangement of bone matrix orthogonal to osteoblast alignment controlled by Tspan11-mediated focal adhesion assembly. *Biomaterials*, 2019; 209: 103-10. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.04.016.
- (31) Sekita A, Matsugaki A, Ishimoto T, Nakano T. Synchronous disruption of anisotropic arrangement of the osteocyte network and collagen/apatite in melanoma bone metastasis, *Journal of Structural Biology*, 2016; 197: 260-270. DOI: 10.1016/j.jsb.2016.12.003
- (32) Kimura Y, Matsugaki A, Sekita A, Nakano T. Alteration of osteoblast arrangement via direct attack by cancer cells: New insights into bone metastasis, *Scientific Reports*, 2017; 7:44824. DOI: 10.1038/srep44824
- (33) Matsugaki A, Matsumoto S, Nakano T, A novel role of interleukin-6 as a regulatory factor of inflammation-associated deterioration in osteoblast arrangement, *International Journal of Molecular Sciences*, 2020; 21: 6659.
- (34) Noyama Y, Nakano T, Ishimoto T, *et al.* Design and optimization of the oriented groove on the hip implant surface to promote bone microstructure integrity. *Bone*, 2013; 52: 659-67. DOI: 10.1016/j.bone.2012.11.005.
- (35) Kuroshima S, Nakano T, Ishimoto T, *et al.* Optimally oriented grooves on dental implants improves bone quality around implants under repetitive mechanical loading. *Acta Biomater*, 2017; 48: 433-44. DOI: 10.1016/j.actbio.2016.11.021. 29.
- (36) UNIOS PL スペーサー (医療機器製造販売承認番号：30300BZX00111000), https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/kikiDetail/ResultDataSetPDF/510462_30300BZX00111000_A_01_01
- (37) Ishimoto T, Kobayashi Y, Takahata M, *et al.* Outstanding in vivo mechanical integrity of additively manufactured spinal cages with a novel "honeycomb tree structure" design for inducing high quality bone: outcomes in sheep model, *Biomaterials*, 2021; under revision.
- (38) Matsuzaka T, Matsugaki A, Nakano T. Control of osteoblast arrangement by osteocyte mechanoreponse through prostaglandin E2 signaling under oscillatory fluid flow stimuli, *Biomaterials*, 2021; in press. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.121203
- (39) Ikee N, Fukuda H, Matsugaki A, Inoue T, Serizawa A, Matsuzaka T, Ishimoto T, Ozasa R, Gokcekaya O, Nakano T. 3D puzzle in cube pattern for anisotropic/isotropic mechanical control of structure fabricated by metal additive manufacturing. *Crystals*, 2021; 11: 959. DOI: 10.3390/cryst11080959.

謝辞

本研究は、SIP (戦略的イノベーション創造プログラム) / 統合型材料開発システムによるマテリアル革命 (三島良直 PD) (管理人: JST)、日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究 (S) (JP25220912, JP18H05254) などをはじめとする研究費支援により実施されました。ここに謝意を表します。