

# BIO Clinica

バイオクリニカ

## 検診・人間ドックで ここまで出来る

The further potentials of health checkups

特集編輯：**井上 真由美**

(京都大学医学部附属病院 先制医療・生活習慣病研究センター)

**Mayumi Inoue**

(Preemptive Medicine and Lifestyle-related Disease Research Center, Kyoto University Hospital)

TOP/巻頭言：**榊田 出**

(武田病院健診センター)

**Izuru Masuda**

(Medical Examination Center, Takeda Hospital)

総論：**井上 真由美**

(京都大学医学部附属病院 先制医療・生活習慣病研究センター)

**General remarks: Mayumi Inoue**

(Preemptive Medicine and Lifestyle-related Disease Research Center, Kyoto University Hospital)

各論：**二宮 利治**

(九州大学大学院医学研究院 衛生・公衆衛生学分野)

**Toshiharu Ninomiya**

(Department of Epidemiology and Public Health, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University)

**津下一代**

(女子栄養大学)

**Kazuyo Tsushita**

(Kagawa Nutrition University)

**吉田 澄人**

(日本医師会総合政策研究機構)

**Sumito Yoshida**

(Japan Medical Association Research Institute)

**石坂 裕子**

(三井記念病院 総合健診センター)

**Yuko Ishizaka**

(Department of Health Care Center, Mitsui Memorial Hospital)

**瀬藤 和也・松田 文彦**

(静岡社会健康医学大学院大学

京都大学大学院 医学研究科 附属ゲノム医学センター)

**Kazuya Setoh, Fumihiko Matsuda**

(Shizuoka Graduate University of Public Health

Center for Genomic Medicine, Graduate School of Medicine, Kyoto University)

# 7

VOL.37 No.7

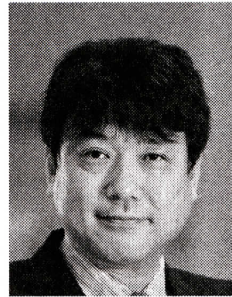
JUL. 2022

(通巻494号)

北隆館

HOKURYUKAN





中野 貴由  
 1990年 大阪大学工学部 卒業  
 1992年 大阪大学大学院工学研究科 博士  
 前期課程 修了  
 1992年 大阪大学工学部材料物性工学科  
 助手着任  
 1996年 博士(工学)(大阪大学) 取得  
 1999年 大阪大学大学院工学研究科マテ  
 リアル科学専攻 講師  
 2001年 大阪大学大学院工学研究科マテ  
 リアル科学専攻 助教授  
 2008年 大阪大学大学院工学研究科マテ  
 リアル生産科学専攻 教授(現職)  
 2020年 大阪大学工学研究科附属異方性  
 カスタム設計・AM(3Dプリン  
 ター) 研究開発センター セン  
 ター長・教授(兼任)  
 2021年(公社) 日本金属学会 会長

## コラーゲン／アパタイト配向性を 指標とした近未来の骨質検診

おざさりょうすけ<sup>1)</sup> まつがき  
**■ 小笹 良輔<sup>1)</sup> ・ 松垣 あいら<sup>1)</sup> ・ 石本 卓也<sup>2)</sup> ・ 中野 貴由<sup>1)</sup>**  
 いしもと たくや<sup>2)</sup> なかの たかよし<sup>1)</sup>

1) 大阪大学 大学院工学研究科

2) 富山大学 学術研究部 都市デザイン学系

Key words : 骨質, アパタイト, コラーゲン,  
骨基質配向性, 金属 3D プリンティング

### Abstract

世界的な高齢化と新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の感染拡大により、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である日本が、持続的に経済と社会を発展させるには、エイジレス社会の実現に向けた医療基盤の構築が喫緊の課題であり、AI(Artificial Intelligence; 人工知能)・デジタル化を有効活用した予防医療の拡充や高度個別化医療の推進が求められる。とりわけ、QOL(Quality Of Life)に直結する骨格系は患者個々における個人差が大きく、患者ごとに応じた骨・骨関節の治療および医療デバイス創製が必要とされる。骨質因子の一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配向性(優先配向方向やその程度)は、骨機能を支配する極めて重要な骨質因子といえる。骨基質配向性は、患者の活動・運動状態、栄養摂取状態、がんや腎不全などの疾患における骨強度変化と強く相関するため、骨基質配向性を指標とした骨質評価・検診は、骨組織の再生や疾患形成過程の解明、疾患診断、創薬支援等に幅広く応用できる。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く骨質検診・医療のカスタム化実現を目指した、骨基質配向化機序の理解とその評価方法、それらに基づく骨治療デバイスへの活用について解説する。

### はじめに

近年、骨密度検査を中心とした従来型医療に対し、骨質(骨密度以外の骨強度を決定する指標)を骨健全性の新たな評価指標として追加する動きが加速しつつある。そのきっかけは2000年に米国国立衛生研究所より、骨強度の予測には「骨質」パラメータの探索が必要であることが提言されたことにある<sup>1)</sup>。それ以来、骨質指標として、骨梁構造、コラーゲン架橋、骨代謝、マイクロクラックなど様々な骨質指標<sup>2-7)</sup>が模索されてきた。筆者らは材料科学的視点から、骨基質の主成分であるコラーゲン線維／アパタイト結晶の3次元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<sup>8)</sup>。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骨密度の検査・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微細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

Medical examination for bone diseases based on collagen/apatite orientation as an index of bone quality parameters in the near future : Ryosuke Ozasa<sup>1)</sup>, Aira Matsugaki<sup>1)</sup>, Takuya Ishimoto<sup>2)</sup>, Takayoshi Nakano<sup>1)</sup>

1) Graduate School of Engineering, Osaka University

2) School of Sustainable Design, University of Toyama



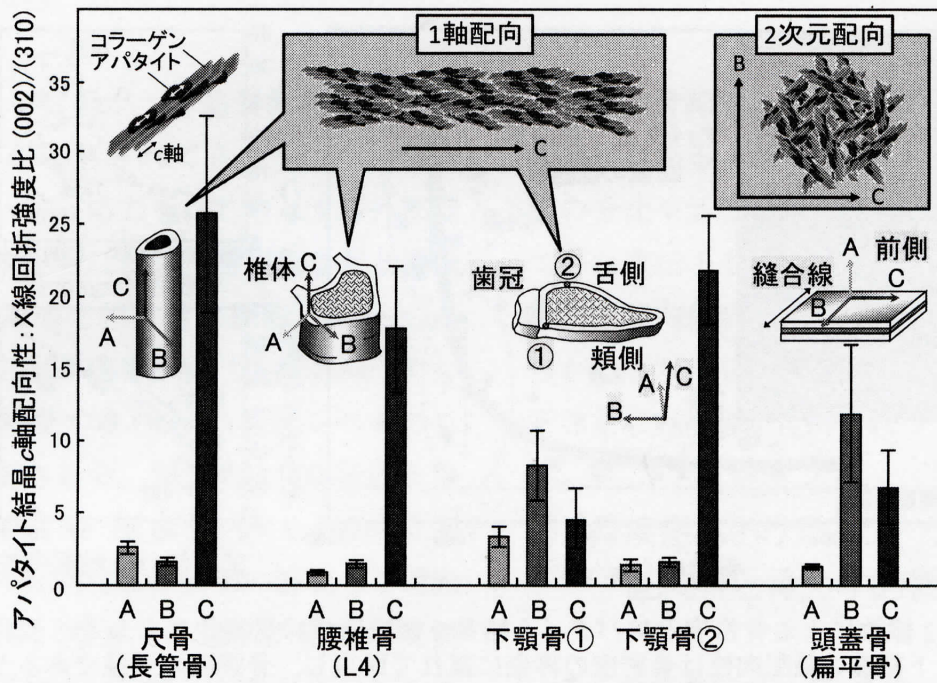


図1 皮質骨における特異なアパタイト結晶 *c* 軸の解剖学的部位依存性。正常な皮質骨では、アパタイト結晶は *in vivo* 応力に依存して配向性を変化させる (文献8から改変引用)。

軸配向性および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<sup>8,9)</sup>。

本稿では、近未来の骨基質配向性を基軸にした骨質検診・医療の実現に向けて、骨基質配向性の変化とその形成機構、非侵襲骨質診断法や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、筆者らのグループにおける最新の成果と知見に基づき紹介する。

### 1. コラーゲン/アパタイト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<sup>8)</sup>。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* 軸配向性が形成される、などがある<sup>8)</sup>。すなわち正常な皮質骨や海綿骨では、*in vivo* (生体内) 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<sup>9-12)</sup>。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 rhBMP2 徐放による長管骨大欠損部での骨再生過程<sup>11)</sup>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) 骨基質配向性指標の回復は骨密度再生に大きく遅れること、(2) 骨力学機能は、骨密度よりも、骨基質配向性との間で強い相関を示すこと、などが理解できる。この場合、力学機能の約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



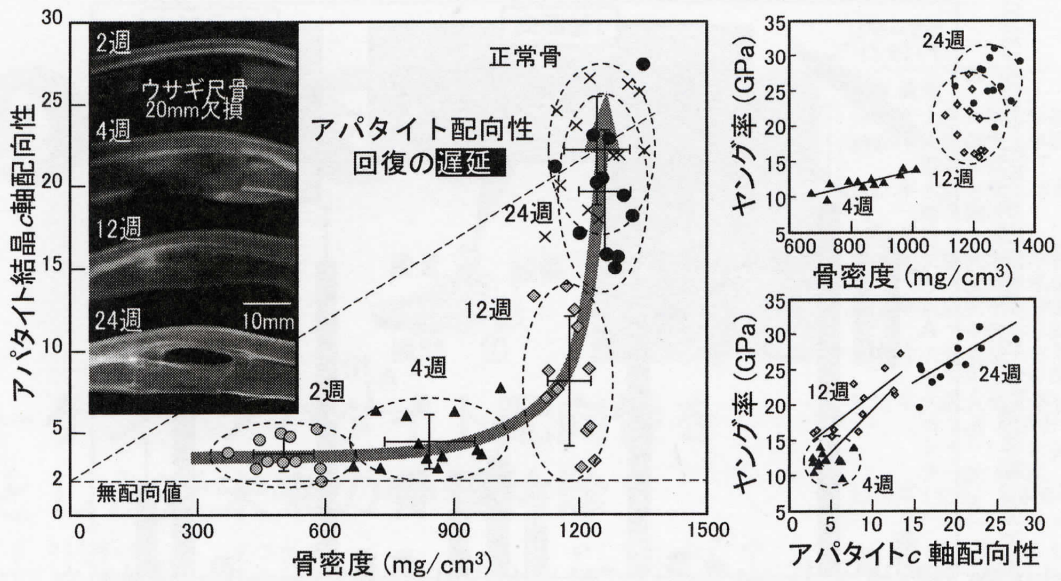


図2 rhBMP2徐放による骨密度とアパタイト結晶c軸配向性の骨再生にともなう変化過程。アパタイト結晶c軸配向性は骨密度の再生に遅れて回復し、骨強度の一種であるヤング率はアパタイト結晶c軸配向性に強く支配される(文献11から改変引用)。

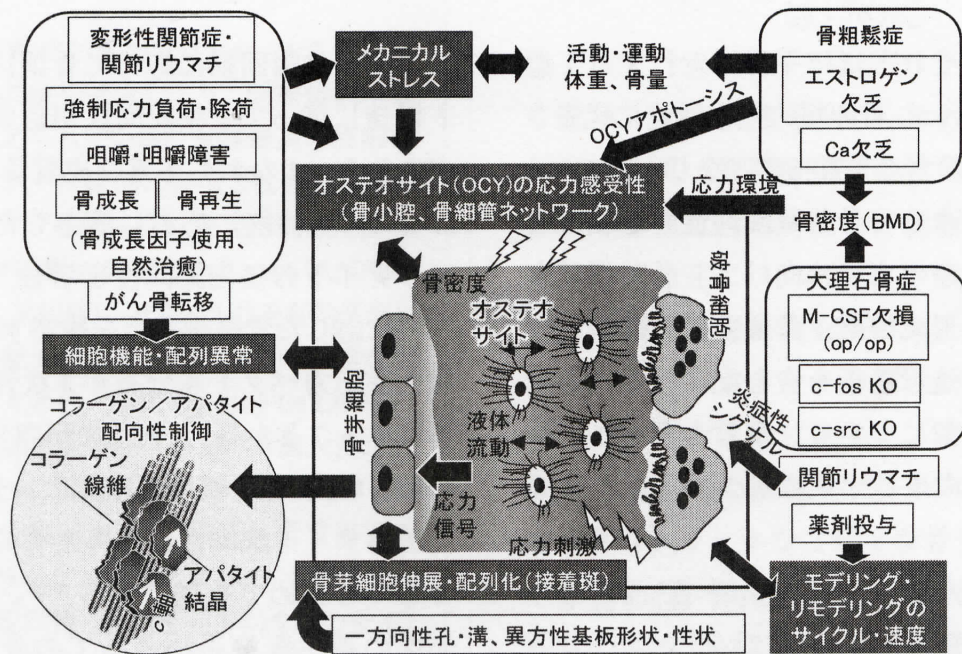


図3 骨基質中のアパタイト結晶c軸配向性に影響を及ぼす様々な因子。アパタイトを含む骨基質の配向性は骨質指標の一つとして期待される。

サイト (Osteocyte: OCY) が、骨基質配向性の制御に対し重要な役割を担う<sup>13)</sup>。一方で、アパタイト配向性が骨健全性早期回復の鍵を握ることから、オステオサイトの機能に依存せずに骨基質配向化を誘導する方法として、バイオマテリアルを用いた骨芽細胞の形態異方性制御が提案<sup>14-17)</sup>されている。

## 2. コラーゲン/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もち、その配向性はコラーゲン線維の走行方向に対応<sup>18)</sup>しつつ変化する。図3に示すように、活動・運動、疾患、薬剤投薬や遺伝子変



異などの様々な要因が、骨基質配向性に影響を与えることが理解されてきた<sup>8,9,19-30)</sup>。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 (Osteoblast: OB)、骨吸収を担う破骨細胞 (Osteoclast: OC)、*in vivo* 応力を受感する 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。なかでも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。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により、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ている<sup>20,25)</sup>。すなわち、骨芽細胞による骨基質配向化誘導には、

活性化破骨細胞由来の特定の可溶性分子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、実際には重要な骨基質配向化制御因子として機能することが明らかとなり、骨基質配向性を通じて遺伝子・分子の新しい役割が理解されつつある。

### 3. 骨疾患におけるコラーゲン／アパタイト配向性と骨力学的機能の変化

多くの疾患において、コラーゲン／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。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<sup>20)</sup>。関節リウマチ患者では、健常者がもつ関節面接線方向に沿った骨基質の優先配向性が失われ、骨材質強度が低下する<sup>27)</sup>。骨粗鬆症では、原発性骨粗鬆症 (エストロゲン欠乏) と続発性骨粗鬆症 (Ca 欠乏食) のラット腰椎骨はともに骨量や骨密度の低下を示すが、骨基質配向性の変動方向が発症要因に応じて全く異なる (図 4)<sup>23)</sup>。原発性骨粗鬆症は、椎骨での骨量減少を補填する

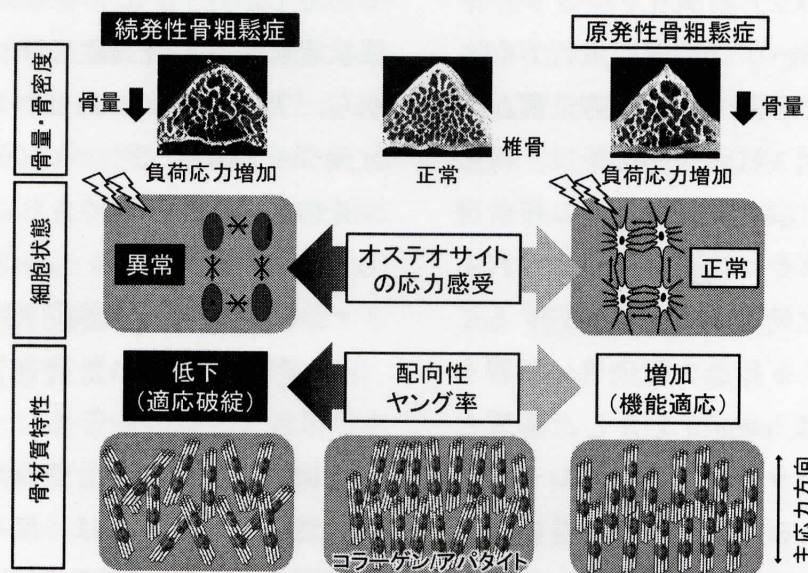


図 4 骨粗鬆症の発症要因に応じた骨基質配向性とそれに関連したヤング率の変化。骨基質配向性とヤング率は続発性骨粗鬆症にて増加する一方で、原発性骨粗鬆症では低下する (文献 23 より改変引用)。



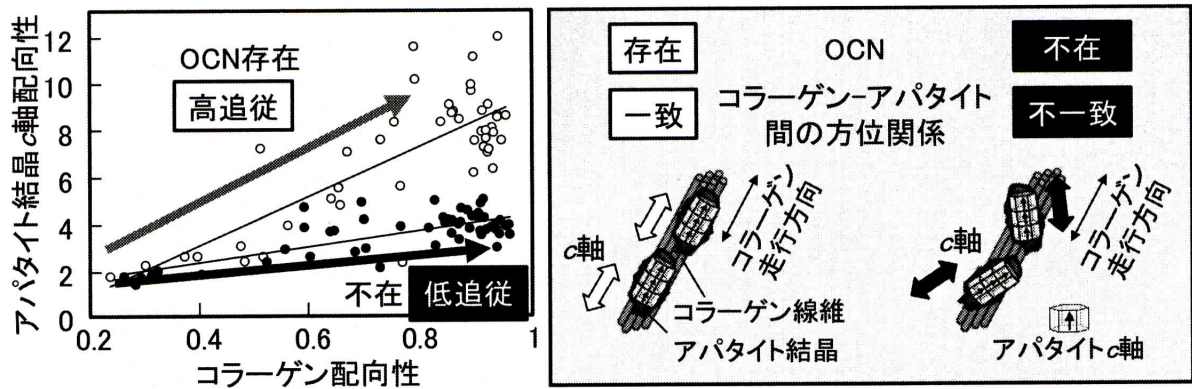


図5 OCN (Osteocalcin) KO マウスにおける大腿骨のコラーゲン線維の走行性とアパタイト結晶 *c* 軸の配向性。OCN-KO ではコラーゲン線維走行とアパタイト結晶 *c* 軸との平行関係が破綻する (文献 26 から改変引用)。

ために骨基質が過度に配向化し、骨は主応力方向へ力学機能適応するが、他方向からの突発的な変動荷重に対しては脆弱性を示す。対照的に、続発性骨粗鬆症は、椎体頭尾軸に沿った配向性とそれに関係するヤング率を異常に低下し、主応力方向からの荷重に対する抵抗力を失う。配向性の正常値からの変動は、応力センサとしてのOCYの応力感受状態によって説明されている<sup>23)</sup>。こうした知見は、骨粗鬆症は骨基質配向性の変動挙動によってカテゴリ分類が可能であり、それぞれの発症要因や生物学的機序に応じた創薬・薬剤治療の必要性を強く示唆するものである<sup>23, 24, 29, 30)</sup>。

近年では、骨基質のうち石灰化テンプレートである有機成分のコラーゲン線維の走行方向とアパタイト結晶の *c* 軸配向方向との方位関係が注目されている<sup>26)</sup>。図3に示す諸因子は、ほとんどの場合、OBの異方的な配列とその接着斑の分布<sup>13-17)</sup>、さらにはそれに基づき産生されるI型コラーゲンの3次元走行方向を規定することで、同時にアパタイト結晶の配向性に影響を及ぼす。配列化OBはIntegrinを介した基質との接着機構に基づきコラーゲン産生プロセスを緻密に統制しており、OB配列の異方性に応じた配向化コラーゲン基質を構築する。その結果、コラーゲン線維の走行方向がアパタイト結晶の

*c* 軸配向性を一意に決定する。しかしながら、図5に示すように、骨形成マーカーの指標の1つとして知られるOCN (Osteocalcin) に注目した場合、OCNのKOにより、コラーゲン線維の走行度合いには変化が見られないものの、アパタイト結晶の *c* 軸配向性は顕著に低下する<sup>26)</sup>。このことは、OCNがコラーゲンホールゾーンもしくはコラーゲン線維そのものとアパタイト結晶の *c* 軸との方位関係を決定する分子であることを意味する。つまり、骨の諸力学的機能の発現に必須であるコラーゲン線維とアパタイト結晶の平行方位関係を構築するには、アパタイト核生成時における非コラーゲン性タンパク質であるOCNの存在が不可欠となる。OCNは血液検査により存在濃度の検出が可能であることから、アパタイト結晶とコラーゲン線維との方位関係を理解するための低侵襲法としてOCN検査の臨床応用が期待される<sup>26)</sup>。

#### 4. 非侵襲骨質診断

～超音波を用いた骨基質配向性解析～

骨機能に直結する骨基質配向性を骨質診断として活用するためには、疾病に応じた骨基質配向性変化を測定・検査するための、非侵襲・低侵襲的解析手法の確立が必要となる。骨基質配



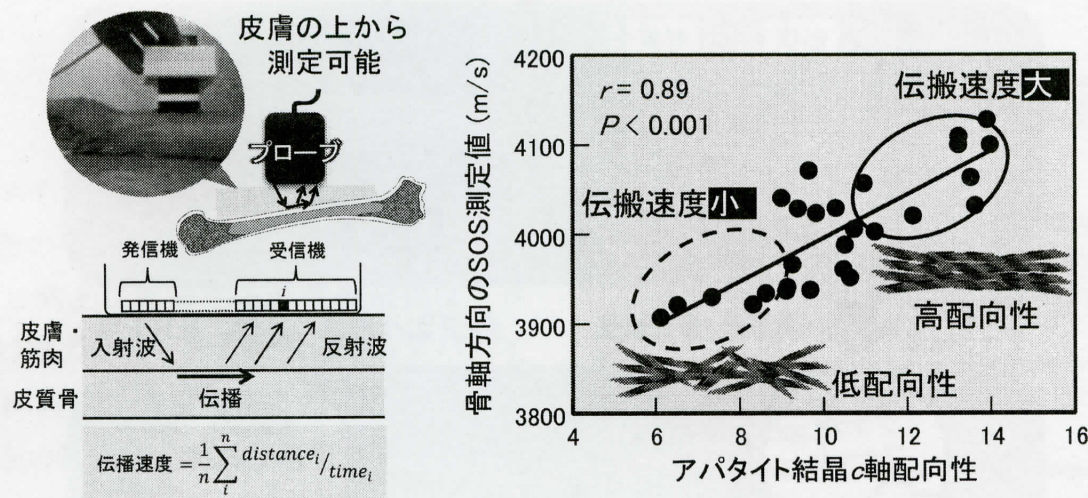


図6 超音波を用いた非侵襲的なアパタイト結晶c軸配向性（骨基質配向性）の新たな解析手法。骨軸に沿ったSOS（Speed of Sound）により骨基質配向性は弾性率を介して間接的に評価可能となる（文献32から改変引用）。

向性は骨密度以外に骨の力学特性や骨代謝回転と関わる重要な因子である。したがって、非侵襲的な方法によって臨床的に評価ができれば整形外科領域、歯科領域などの骨関連分野での疾病の診断や薬剤・医療デバイスの有効性をより正確にモニタリングできるものと期待される<sup>31)</sup>。筆者らの研究グループでは、コラーゲンの優先走行方向と走行度の定量化には複屈折顕微鏡法やラマン分光法、アパタイト配向性は微小領域X線回折（ $\mu$ -XRD）法を用いることで高精度に解析している。一方で、こうした手法は侵襲的な手法であり、骨組織を摘出して解析する必要がある。臨床現場で骨基質配向性を評価するには、低侵襲もしくは非侵襲な手法が必須となる。骨基質の配向性を直接非侵襲に解析することは原理的に困難であることから、超音波の表面伝達速度（Speed Of Sound: SOS）を計測（図6）することで、骨基質配向性を間接的に解析する手法を考案した<sup>32)</sup>。本装置は、脛骨、橈・尺骨、下顎骨といった種々の長管骨に対して適用可能である。SOSは弾性率／骨密度（骨密度）比の1/2乗に比例することから、例えば1軸配向性の長管骨において、骨軸方向のSOSは配向性を、垂直方向のSOSは骨密度を反映する。さらに

弾性率の異方化は、OCYを通じての骨基質配向性の構築につながるため、骨軸方向のSOSは弾性率を介して、骨基質配向性を反映することになる。もちろん、SOSは骨内部の空隙やクラックなど<sup>33)</sup>の影響を受けることから、SOSは骨基質配向性を反映する間接的な指標ではあるが、アパタイト配向性と非侵襲的にヒト脛骨を解析した骨軸方向のSOSは強い相関関係を示す（図6）<sup>32)</sup>。結果として、SOSは正常な骨への*in vivo* 応力分布や骨代謝回転の速度をも予測することが可能になる<sup>34)</sup>。超音波は、現状の骨梁を評価する目的での骨粗鬆症の診断には適用されていないが<sup>35)</sup>、超音波SOSを用いた骨基質配向性の診断は骨密度で説明できな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。

## 5. 金属3Dプリンティング（金属3DP）によるカスタムメイド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



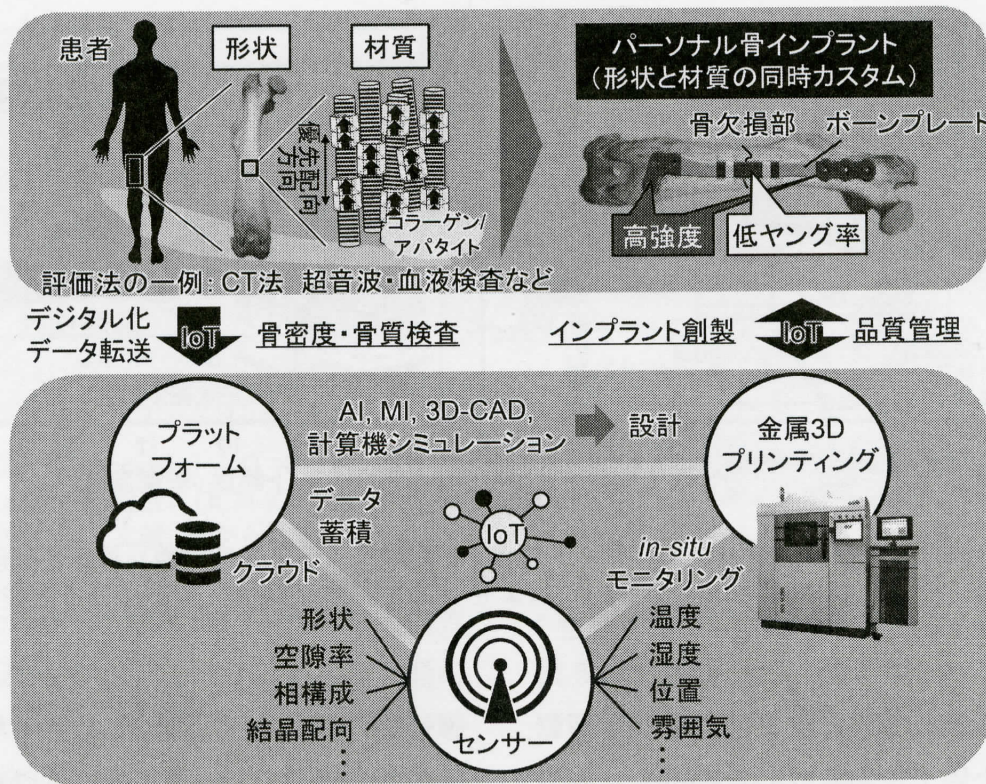


図7 金属3Dプリンティングを活用した近未来におけるカスタムメイド骨質誘導デバイスの創製と供給システム。

ている<sup>36, 37)</sup>。こうした骨医療デバイスは骨系細胞の一方向への誘導や *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を目的に、金属3DP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3DPは最先端の材料創製技術として注目されており、ASTM (F2792-12a) や日本産業規格 (JIS B 9441:2020) で規定された電子ビーム/レーザビームを熱源とする粉末床溶融結合法が骨医療デバイス開発に対して主に活用されている。2021年4月には骨基質配向化誘導が可能な脊椎固定用デバイス「UNIOS (ユニオス) PL スペーサー」が薬事承認、同年7月には上市化された<sup>38)</sup>。椎体骨との接触面に金属3DPによる特殊微細構造 (Honeycomb Tree Structure: HTS)<sup>39)</sup> 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、OBの一方向伸展・配列化

をもたらし、骨再生早期から配向化した骨組織の再建を可能とする。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し、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<sup>26)</sup>に基づき骨基質の集合組織形成を導く。

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データに基づき患者ごとにカスタマイズされた骨・骨関節用インプラントの開発とシステムの構築が進められている (図7)。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近未来社会においては、骨構造・骨質による骨健全性の検査・診断とそのデジタル化に基づく最適インプラント設計、3D設計図に従った医療デバイス創製のための金属3DP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の実現が大いに期待される。



## おわりに

今後のエイジレス社会の実現には、予防医療による疾患の早期発見・治療が鍵を握る。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で、近未来の医療現場にて評価可能となる。患者の活動・健康状態などに敏感な骨基質の配向性は、骨密度や他の骨質指標に加えて重要な評価指標であり、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、骨基質配向性の誘導・最適化に向けた骨医療デバイスの研究・開発も進められており、骨量・骨密度を中心とした従来の医療から、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。今後の検診から医療デバイス創製・創薬までのシームレスな連携と金属3Dプリンティングによる高度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。

## 文献

- 1) NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. *J Am Med Assoc*, 2001; 285: 785-795. 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: 459-464. 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: 166-176. 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: 512-520. DOI: 10.1359/jbmr.2003.18.3.512.
  - 7) Donnelly E. Methods for assessing bone quality: A review. *Clin Orthop Rel Res*, 2011; 469: 2128-2138. 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: 479-487. 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: 741-747. 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  $\epsilon$ -caprolactone composite scaffolds. *Tissue Eng C*, 2016; 22: 856-863. 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: 1170-1179. DOI: 10.1002/jbmr.1825.
  - 12) Ozasa R, Nakatsu M, Moriguchi A, *et al.* Analysis of bone regeneration based on the relationship between the orientations of collagen and apatite in mouse femur. *Mater Trans*, 2020; 61: 381-386. DOI: 10.2320/matertrans.MT-M2019341.
  - 13) Ishimoto T, Kawahara K, Matsugaki A *et al.* Quantitative Evaluation of Osteocyte morphology and bone anisotropic extracellular matrix in rat femur. *Calcif Tissue Int*, 2021; 109: 434-444. DOI: 10.1007/s00223-021-00852-1.
  - 14) Matsugaki A, Isobe Y, Saku T *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. DOI:10.1002/jbm.a.35189
  - 15) 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: 134-143. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.10.025.
  - 16) Ozasa R, Matsugaki A, Isobe T *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. DOI: 10.1002/jbm.a.36238.



- 17) Ozasa R, Matsugaki A, Matsuzaka T *et al.* Superior alignment of human iPSC-osteoblasts associated with focal adhesion formation stimulated by oriented collagen scaffold, *Int J Mol Sci* 2021; 22: 6232. DOI: 10.3390/ijms22126232.
- 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: 533-544. DOI: 10.1016/8756-3282(95)00076-p.
- 19) 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: 308-314. DOI: 10.1007/s00774-016-0754-y.
- 20) 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: 216-223. DOI: 10.1016/j.bone.2017.06.023.
- 21) 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.
- 22) Sekita A, Matsugaki A, Ishimoto T, *et al.* 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
- 23) 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: 449-460. DOI: 10.1007/s00223-018-0508-z.
- 24) 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.
- 25) 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.
- 26) 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.
- 27) 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.
- 28) Ozasa R, Matsugaki A, Ishimoto T, *et al.* Bone fragility via degradation of bone quality featured by collagen/apatite micro-arrangement in human rheumatic arthritis. *Bone*, 2022; 155: 116261. DOI: 10.1016/j.bone.2021.116261.
- 29) Ozasa R, Saito M, Ishimoto T, *et al.* Combination treatment with ibandronate and eldcalcitol prevents osteoporotic bone loss and deterioration of bone quality characterized by nano-arrangement of the collagen/apatite in an ovariectomized aged rat model. *Bone*, 2022; 157: 116309. DOI: 10.1016/j.bone.2021.116309
- 30) Ishimoto T, Ozasa R, Saito M, *et al.* Ibandronate suppresses changes in apatite orientation and Young's modulus caused by estrogen deficiency in rat vertebrae. *Calcif Tissue Int*, 2022; 110: 736-745. DOI: 10.1007/s00223-021-00940-2.
- 31) 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.
- 32) 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.
- 33) 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: 111-119. DOI: 10.1016/j.bone.2018.07.018.
- 34) 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.
- 35) 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2015年版, 2015.
- 36) 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: 659-667. DOI: 10.1016/j.bone.2012.11.005.
- 37) 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: 433-444. DOI: 10.1016/j.actbio.2016.11.021. 29.
- 38) 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](https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/kikiDetail/ResultDataSetPDF/510462_30300BZX00111000_A_01_01)
- 39) Ishimoto T, Manabu I, Nakano T, *et al.* Outstanding in vivo mechanical integrity of additively manufactured spinal cages with a novel "honeycomb tree structure" design via guiding bone matrix orientation. *The Spine Journal*, 2022, in press.

#### 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) (管理法人: JST), 日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究 (S) (JP25220912, JP18H052540) 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。

※「地域ケアリング」2021年12月臨時増刊号から編集部への依頼により, 加筆修正の上転載されました。