

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15048

研究課題名（和文）材料工学的手法を基軸とする生体微量元素としてのCuによる骨強度制御機構の解明

研究課題名（英文）Investigation of control mechanism of bone strength via copper as biotrace metal elements based on material engineering approach

研究代表者

小笹 良輔（Ozasa, Ryosuke）

大阪大学・工学研究科・助教

研究者番号：80845347

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：骨は、体躯を支える構造材料であり、その構成成分であるコラーゲン線維とアパタイト結晶の複合化微細構造によって力学的機能を発揮するものの、骨微細構造の形成・変化機序のほとんどは未知である。本研究では、生体必須金属元素である銅が骨微細構造をはじめとする骨材質特性に及ぼす影響を定量的に明らかにし、銅が微細構造制御を介して骨の力学的機能制御に寄与していることを示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、骨強度決定を担う骨微細構造の制御因子として、銅の関与を初めて示唆するものであり、骨健全化における生体必須元素の重要性を材料工学の観点より明らかにした。得られた知見は、骨組織の構造材料としての機能発現機序の一端を明らかにするものであり、骨脆弱性を呈する骨疾患に対する治療法や再生法の提案につながる可能性をもつ。

研究成果の概要（英文）：Bone tissue, which is a structural material, has a specific bone microstructure derived from ordered collagen fibers and the related apatite crystallites. Although the bone microstructure is widely recognized to regulate bone mechanical functions, formation mechanism of the structure in vivo remains unknown. The present study revealed the effects of copper as a biotrace metal element on bone material properties and suggested the possibility that copper contributes to control bone strength via regulation of the bone microstructure.

研究分野：生体材料学

キーワード：生体必須金属元素 銅 骨組織 骨微細構造 アパタイト配向性 骨強度 骨質 結晶集合組織

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

一部の骨疾患では骨密度が正常であっても強度が低いことが指摘されている。こうした骨密度と骨力学機能との不一致は、骨密度と骨強度の正相関を基本概念とする従来の骨医学では説明不可能であり、その原因は未解明のままである。したがって、現状これらの骨異常状態に対する治療のための方策は見つかっておらず、この解決のためには、骨密度と独立して骨力学的機能を制御する因子の解明とその制御機構を解明することが重要といえる。

銅欠乏症の骨は、骨密度と骨力学機能の相関関係が不一致を呈する例の一つである。銅欠乏症骨では、正常骨に対して骨密度が同程度であるにもかかわらず、引張試験での破断荷重が最大30%以上も低下する^[1]。カルシウムやリンが骨の無機結晶である生体アパタイトの主たる構成元素であるのに対し、銅は骨中にごく微量しか存在しない微量金属元素である^[2]。それにもかかわらず、銅濃度のわずかな変動により、骨は重大な強度劣化を引き起こす。こうした組成の微小な変動による材質特性の顕著な変化は、結晶学的観点から見ても特異的であり、起こり得るとしても、結晶構造や結晶集合組織^[3, 4]の劇的な変化なしでは説明することができない。このように、銅は、わずかな濃度変動で骨力学機能を劇的に変化させる因子であり、骨の機能性を制御できる可能性を秘めている。

2. 研究の目的

本申請課題は、生体微量金属元素としての銅による骨機能制御メカニズムを結晶材料学的かつ生物学的観点から解明することを目的とする。

3. 研究の方法

in vivo 実験系として対象飼料と銅欠乏飼料をラットに一定期間投与し、8週間経過後に血清採取と大腿骨の単離を行った(図1)。骨断面積は μ -CT法、骨密度はpQCT法を用いて解析した。アパタイト配向性を微小領域X線回折法、コラーゲン配向性を複屈折顕微鏡法により定量的に解析した。ヤング率はナノインデンテーション法により解析した。血清中タンパク質濃度はELISAにより定量測定した。なお、本研究課題は動物倫理委員会の承認の下で実施した。

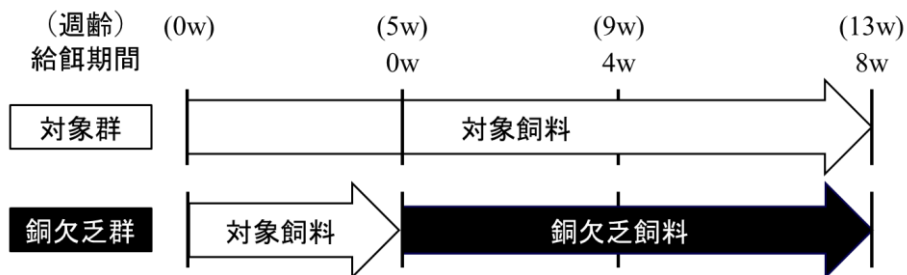


図1. *in vivo* 動物モデルの作製方法

4. 研究成果

骨強度に影響を及ぼす材質因子を特性するために、骨密度および骨アパタイト配向性の解析を実施した。銅欠乏群は対象群と同程度の骨密度を示したものの、骨アパタイト配向性の変化挙動は変化した。対象群と銅欠乏群はいずれも加齢にともない配向性を低下するものの、銅欠乏群は給餌期間に応じて顕著な配向性低下を示した(図2)。これと一致して、低配向性を呈する骨

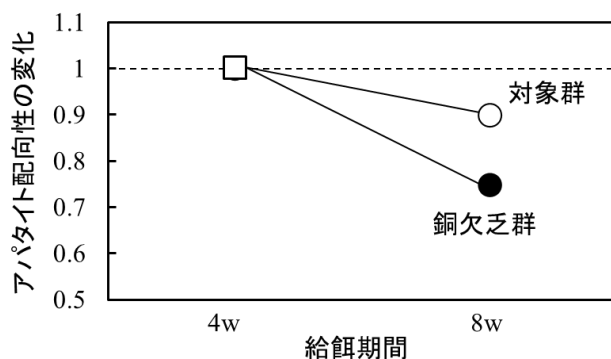


図2. アパタイト配向性の給餌期間依存的な変化

部位にて骨力学的機能が低下した。つまり、骨微細構造破綻が銅欠乏状態における骨強度低下の要因である可能性が示唆された。

銅欠乏症における骨微細構造変化の機序について検討するために、特定タンパク質の血清中濃度の定量解析を実施した。銅欠乏群では当該タンパク質量の低下が認められた (図 3)。当該タンパク質の欠損モデル動物では、アパタイト結晶が、核生成の際のコラーゲン有機物との結晶方位エピタキシーを損なうことを見出した。

以上より、*in vivo* において、銅は生体内分子の代謝調整を起点として、骨微細構造の制御を介して、骨密度とは無関係に骨力学機能を制御する可能性が示唆された。

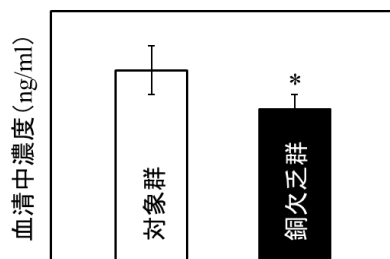


図 3. 特定タンパク質の血清中濃度. *: $p < 0.05$.

引用文献

- [1] D.M. Medeiros et al.: J Trace Elem Med Biol 10 (1997) 197-203.
- [2] R. Jugdaohsingh et al.: Bone reports 1 (2015) 9-15.
- [3] T. Nakano et al.: Bone 31 (2002) 479-487.
- [4] R. Ozasa et al.: Calcif Tissue Int 104 (2019) 449-460.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ozasa Ryosuke, Saito Mitsuru, Ishimoto Takuya, Matsugaki Aira, Matsumoto Yoshihiro, Nakano Takayoshi	4. 巻 157
2. 論文標題 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	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 116309
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bone.2021.116309	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ozasa Ryosuke, Matsugaki Aira, Ishimoto Takuya, Kamura Satoshi, Yoshida Hiroto, Magi Mayu, Matsumoto Yoshihiro, Sakuraba Koji, Fujimura Kenjiro, Miyahara Hisaaki, Nakano Takayoshi	4. 巻 155
2. 論文標題 Bone fragility via degradation of bone quality featured by collagen/apatite micro-arrangement in human rheumatic arthritis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 116261
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bone.2021.116261	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kawai Mariko Yamamoto, Ozasa Ryosuke, Ishimoto Takuya, Nakano Takayoshi, Yamamoto Hiromitsu, Kashiwagi Marina, Yamanaka Shigeki, Nakao Kazumasa, Maruyama Hiroki, Bessho Kazuhisa, Ohura Kiyoshi	4. 巻 15
2. 論文標題 Periodontal Tissue as a Biomaterial for Hard-Tissue Regeneration following bmp-2 Gene Transfer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 993
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ma15030993	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ozasa Ryosuke, Matsugaki Aira, Matsuzaka Tadaaki, Ishimoto Takuya, Yun Hui-Suk, Nakano Takayoshi	4. 巻 22
2. 論文標題 Superior Alignment of Human iPSC-Osteoblasts Associated with Focal Adhesion Formation Stimulated by Oriented Collagen Scaffold	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 6232
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22126232	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 小笹良輔、石本卓也、松垣あいら、中野貴由	4. 巻 36
2. 論文標題 DX時代の金属3Dプリンティングによるカスタムメイド骨インプラント	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 66-72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松垣あいら、石本卓也、小笹良輔、中野貴由	4. 巻 23
2. 論文標題 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	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 地域ケアリング	6. 最初と最後の頁 71-80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松垣あいら、石本卓也、小笹良輔、池尾直子、中野貴由	4. 巻 3
2. 論文標題 パーソナル骨質医療実現のための骨コラーゲン/アパタイト配向性評価とその制御	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Precision Medicine	6. 最初と最後の頁 59-68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 2件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小笹良輔
2. 発表標題 生体材料埋入対象としての骨組織の微細構造とその変化機構
3. 学会等名 名古屋工業大学研究協働会助成研究会 第1回・生体材料開発に関する研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名	Ryosuke Ozasa, Takuya Ishimoto, Takeshi Nagase, Mitsuharu Todai, Aira Matsugaki, Takayoshi Nakano
2. 発表標題	Mechanical Property and Biocompatibility of TiNbTaZrMo Bio-High Entropy Alloy (BioHEA) Developed by Laser Powder Bed Fusion
3. 学会等名	MRM2021 (国際学会)
4. 発表年	2021年～2022年

1. 発表者名	山岡祐介、小笹良輔、松垣あいら、中野貴由
2. 発表標題	低リン血症における骨脆弱化に骨微細構造が及ぼす影響
3. 学会等名	第78回日本歯科理工学会学術講演会
4. 発表年	2021年～2022年

1. 発表者名	小笹良輔、中野貴由
2. 発表標題	骨アバタイト配向度のオステオカルシン濃度依存的変化
3. 学会等名	第78回日本歯科理工学会学術講演会
4. 発表年	2021年～2022年

1. 発表者名	山岡祐介、小笹良輔、松垣あいら、中野貴由
2. 発表標題	低リン血症性くる病における骨脆弱化の機序
3. 学会等名	第169回日本金属学会秋期講演大会
4. 発表年	2021年～2022年

1. 発表者名 小笹良輔、中村郁仁、松垣あいら、中野貴由
2. 発表標題 妊娠および授乳関連性骨粗鬆症における骨力学機能制御メカニズムの解明
3. 学会等名 第169回日本金属学会秋期講演大会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 小笹良輔、佐々木恭平、中野貴由
2. 発表標題 アテローム性動脈硬化が骨基質配向性と骨材質強度に及ぼす影響
3. 学会等名 第41回日本骨形態計測学会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 小笹良輔
2. 発表標題 金属材料工学に基づく生体硬組織の集合組織形成機構に関する研究
3. 学会等名 日本金属学会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 山岡祐介、小笹良輔、中野貴由
2. 発表標題 リン代謝不全における骨微細構造と骨力学機能の破綻
3. 学会等名 日本金属学会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 中村郁仁、小笹良輔、中野貴由
2. 発表標題 妊娠および授乳関連性骨粗鬆症における骨微細構造とヤング率の変化
3. 学会等名 日本金属学会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 小笹良輔
2. 発表標題 材料工学に基づく骨組織の機能発現機構
3. 学会等名 日本セラミックス協会2021年年会 第1回 バイオ関連材料デザイン研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 小笹良輔、佐々木恭平、中野貴由
2. 発表標題 アテローム性動脈硬化における骨力学機能の低下
3. 学会等名 日本金属学会
4. 発表年 2020年～2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室HP
<http://www.mat.eng.osaka-u.ac.jp/msp6/nakano/publications/>
 大阪大学 研究者総覧
<https://rd.iai.osaka-u.ac.jp/ja/7012bf00115007bb.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	中野 貴由 (Nakano Takayoshi) (30243182)	大阪大学・工学研究科・教授 (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
韓国	Korea Institute of Materials Science			