

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06361

研究課題名(和文)骨系細胞によるアパタイト結晶配向化機構の解明

研究課題名(英文)Cellular mechanisms underlying anisotropic bone matrix construction

研究代表者

松垣 あいら (Matsugaki, Aira)

大阪大学・工学研究科 助教

研究者番号：10592529

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：骨芽細胞、破骨細胞、オステオサイトといった骨系細胞間の情報伝達が可能でかつ骨芽細胞配列制御可能な新規の共培養モデルを構築し、マイクロアレイなどの強力なスクリーニング手法を駆使することで、骨配向化の本質的な分子メカニズム解明を目指した。このような異方性共培養系の確立により、細胞間の相互作用を介した骨配向化機構の一端が明らかになった。具体的には、応力感受細胞であるオステオサイトは、せん断刺激にตอบสนองして骨芽細胞配列を制御することが明らかになった。一方で、破骨細胞 骨芽細胞間相互作用に着目し、サイトカインを介した骨配向化を司る具体的なシグナル伝達経路を見出した。

研究成果の概要(英文)： Bone tissue anisotropy is determined by the osteoblast arrangement. In bone tissue, osteoblast behaviors are regulated by the mutual activities of other types of bone cells. Understanding the cell-cell communication is essential to reveal the molecular mechanisms underlying the anisotropic bone tissue formation. A novel coculture model was established to understand the intercellular communication between osteoblast, osteoclast, and osteocyte. We discovered the mechanosensing by osteocytes regulate the osteoblast arrangement. In addition, the crosstalk between osteoclasts and osteoblasts play key roles in anisotropic bone tissue construction.

研究分野：生体材料学

キーワード：骨配向性 生体アパタイト結晶 細胞配列 細胞間相互作用 オステオサイト

#### 1. 研究開始当初の背景

生体組織が持つ複雑かつ巧妙な微細構造は、組織固有の機能発現に必須である。一方で、その生物学的形成機構の解明は必須であるものの容易ではない。中でも生体内で構造・機能材料として振る舞う骨組織はアパタイトの結晶構造に由来する特徴的な配向化構造を有し、骨密度以上に骨の力学機能を支配する重要な骨質因子としての「骨配向性」が生体内でいかに形成されるのか、その生物学的機序の解明が不可欠である。なぜなら既存の骨疾患治療・骨研究は骨密度・骨量にのみ対応しており、骨本来の機能発現を可能とするためには骨配向性を考慮した本質的な研究が最重要課題であるためである。

研究代表者らはこれまで、個々の骨芽細胞の配列パターンが骨アパタイトの秩序だった結晶学的配向性を作り出すことを見出した。すなわち、外部環境に対する細胞の生物学的応答が骨アパタイトの結晶学的配向性を支配することを解明し、材料工学的立場から、細胞生物学・分子生物学との融合による新たな学術領域を開拓してきた。しかしながら、生体内での複雑な環境での骨配向化機構解明のためには、細胞間相互作用を考慮し、情報伝達を介した遺伝子レベルでの骨配向化機構解明が必須である。

#### 2. 研究の目的

骨芽細胞配列化は細胞骨格タンパク、接着斑構成タンパクによる分子レベルでの制御機構を介した細胞・細胞外基質の接着により達成される。本研究課題では、骨における複雑な細胞間ネットワークに着目し、骨配向化を決定する骨芽細胞配列化が骨系細胞間のクロストークにより、いかに制御されるのか、分子レベルからそのメカニズム解明に取り組む。

#### 3. 研究の方法

骨配向化メカニズム解明のため、骨組織～細胞、分子レベルまでマルチスケールの実験系を構築する。骨芽細胞、破骨細胞、オステオサイトといった骨系細胞間の情報伝達が可能でかつ骨芽細胞配列制御可能な新規の共培養モデルを構築し、マイクロアレイなどの強力なスクリーニング手法を駆使することで、骨配向化の本質的な分子メカニズムを解明する。

#### 4. 研究成果

骨配向性を決定する骨芽細胞配列化は、細胞骨格タンパク、接着斑構成タンパクによる分子レベルでの制御機構により達成されることが見出された。本研究課題では、材料工学と細胞生物学の融合的視点・手法に基づき、骨配向化機構解明のための異方性共培養モデルを確立した。細胞への物理刺激や、細胞間で移動する分子サイズを限定することに成功した。この培養系により、オステオサイ

ト、骨芽細胞、破骨細胞の相互作用を介した骨配向化機構解明の一端が明らかになった。

具体的には、応力感受細胞であるオステオサイトは、せん断刺激に応答して骨芽細胞配列を制御することが明らかになった。一方で、破骨細胞・骨芽細胞間相互作用に着目し、サイトカインを介した骨配向化を司る具体的なシグナル伝達経路を見出した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計21件)

以下に主要な成果を示す。

Y. Kimura, A. Matsugaki, A. Sekita, T. Nakano: Alteration of osteoblast arrangement via direct attack by cancer cells: New insights into bone metastasis, *Scientific Reports*, 7:44824, (2017) pp.1-11  
DOI: 10.1038/srep44824

A. Sekita, A. Matsugaki, T. Nakano: Disruption of collagen/apatite alignment impairs bone mechanical function in osteoblastic metastasis induced by prostate cancer, *Bone*, 97 (2017), pp.83-93  
DOI: 10.1016/j.bone.2017.01.004

R. Ozasa, A. Matsugaki and T. Nakano: Directional control of mature osteoblast derived from juvenile mouse calvariae, *Materials Transactions*, 58 [6], (2017) in press.  
DOI: 10.2320/matertrans.M2017077

関田愛子、松垣あいら、小笹良輔、中野貴由：新規イメージング法による骨内血管網 - 骨基質異方性構造の相関解明 (Association between Intraosseous Vasculature and Bone Matrix Anisotropy Analyzed with a Novel Visualization Method)、*日本金属学会誌*, 81 [6], (2017), in press  
DOI: 10.2320/jinstmet.J2017005

松垣あいら、中野貴由：骨芽細胞配列化による異方性骨基質構築、*バイオマテリアル生体材料*、34 [1] (2016), pp.32-33.

松垣あいら、中野貴由：材料工学的手法に基づく細胞配列化イメージング、特集「顕微鏡法による材料開発のための微細構造研究最前線(10)」顕微鏡イメージング技術の進展と材料科学の新展開 (1) 様々なイメージング技術、*まてりあ*, 55 [12], (2016), p.579.

A. Sekita, A. Matsugaki, T. Ishimoto,

T. Nakano: Synchronous disruption of anisotropic arrangement of the osteocyte network and collagen/apatite in melanoma bone metastasis, *Journal of Structural Biology*, 197(3), (2016), pp.260-270, DOI: 10.1016/j.jsb.2016.12.003

A. Matsugaki, T. Nakano: Control of cellular arrangement by surface topography induced by plastic deformation, *Crystals*, 6(6), (2016), 73 DOI: 10.3390/cryst6060073

A. Sekita, A. Matsugaki and T. Nakano: Disruption of collagen matrix alignment in osteolytic bone metastasis induced by breast cancer, *Materials Transactions*, 57 [12], (2016), pp. 2077-2082. DOI: 10.2320/matertrans.M2016341

松垣あいら、中野貴由: 異方性骨基質構築のための細胞配列化制御、*The Bone*, vol.29, No.4 (2015), 3(339)-8(344).

A. Matsugaki, Y. Isobe, T. Saku and T. Nakano: 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*, Vol.103 (2) (2015), pp.489-499. DOI:10.1002/jbm.a.35189

A. Matsugaki, G. Aramoto, T. Ninomiya, H. Sawada, S. Hata and T. Nakano: Abnormal arrangement of a collagen/apatite extracellular matrix orthogonal to osteoblast alignment is constructed by a nanoscale periodic surface structure, *Biomaterials*, 37 (2015), pp.134-143. DOI:10.1016/j.biomaterials.2014.10.025

〔学会発表〕(計51件)  
以下に主要な成果を示す。

松垣あいら、木村友美、関田愛子、中野貴由: 骨-がん細胞相互作用による骨配向化制御機構、日本金属学会2017年春期(第160回)講演大会、首都大学東京南大沢キャンパス、2017年3月15日(口頭)

山崎大介、松垣あいら、中野貴由、磯部仁博、佐久太郎: 骨配向化機構解明を目指した生体模擬共培養モデルの構築、日本金属学会2017年春期(第160回)講演大会、首都大学東京南大沢キャンパス、2017年3月15日(口頭)

松垣あいら、中野貴由: 塑性変形による表面起伏を利用した骨芽細胞・骨基質配向化

制御、日本バイオマテリアル学会シンポジウム2016、福岡国際会議場、2016年11月22日(口頭)

松垣あいら、青木洋、中野貴由: オステオサイトを起点とする細胞間相互作用に基づく骨芽細胞挙動への影響、第159回日本金属学会春期講演大会、2016年9月21-23日、大阪大学豊中キャンパス、2016年9月22日(口頭)

A. Matsugaki, T. Nakano: Effects of Transient Cytoskeletal Change on Construction of Anisotropic Bone Matrix, PRICM9 (Pacific Rim International Conference on Advanced Materials and Processing) Aug.1-5, 2016, Kyoto international conference center, Kyoto, Japan, Aug.4, 2016. (oral)

Y. Inagaki, R. Ozasa, A. Matsugaki, T. Nakano: Osteoblast Arrangement Controlled by Interaction with Osteoclast, PRICM9 (Pacific Rim International Conference on Advanced Materials and Processing) Aug.1-5, 2016, Kyoto international conference center, Kyoto, Japan, Aug.3, 2016. (poster)

松垣あいら、中野貴由: 基板表面形状に依存した細胞配列化・骨基質配向化挙動、第36回日本骨形態計測学会、朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター、2016年6月24日(口頭)

松垣あいら、村上愛実、石本卓也、中野貴由: 流体せん断刺激に対するオステオサイトの異方的応答、第158回日本金属学会春期講演大会、2016年3月23-25日、東京理科大学葛飾キャンパス、2016年3月25日(口頭)

稲垣雄平、松垣あいら、中野貴由: 破骨細胞 骨芽細胞間相互作用を介した骨配向化制御機構、第158回日本金属学会春期講演大会、2016年3月23-25日、東京理科大学葛飾キャンパス、2016年3月24日(口頭)

山崎大介、松垣あいら、中野貴由: 異方性骨類似組織構築を目指したオステオサイトネットワークの制御、第158回日本金属学会春期講演大会、2016年3月23-25日、東京理科大学葛飾キャンパス、2016年3月24日(口頭)

A. Matsugaki, N. Fujiwara, T. Nakano: Mechanical strain-induced bone matrix alignment, The 24th International Symposium on Processing and Fabrication of Advanced Materials, Dec.18-20, Kansai

University Senriyama Campus Centenary  
Memorial Hall, Dec.20, 2015. (oral)

松垣あいら, 新本元東, 二宮孝文, 沢田博司, 中野貴由: ナノ周期構造による直交性骨基質制御、第 37 回日本バイオマテリアル学会大会、2015 年 11 月 9 日-10 日、京都テルサ、2015 年 11 月 10 日(口頭、ハイライト発表)

松垣あいら、中野貴由: 骨芽細胞を基軸とした骨配向化機構、第 157 回日本金属学会秋期講演大会、2015 年 9 月 16-18 日、九州大学伊都キャンパス、2015 年 9 月 17 日(口頭)

稲垣雄平、松垣あいら、中野貴由:  
破骨細胞-骨芽細胞相互作用による骨芽細胞配列化制御機構、第 157 回日本金属学会秋期講演大会、2015 年 9 月 16-18 日、九州大学伊都キャンパス、2015 年 9 月 17 日(口頭)

松垣あいら、中野貴由: 「骨芽細胞による配向化骨基質形成」日本バイオマテリアル学会 第 10 回関西若手研究発表会、関西大学、2015 年 8 月 5 日(口頭)

松垣 あいら、新本 元東、中野 貴由: 「骨芽細胞配列に直交する異方性骨基質形成」第 35 回日本骨形態計測学会、倉敷市芸文館、2015 年 6 月 5 日(口頭)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.mat.eng.osaka-u.ac.jp/msp6/nakano/> (中野研究室)で研究成果を公開している。

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

松垣 あいら (MATSUGAKI, Aira)  
大阪大学・大学院工学研究科・助教  
研究者番号: 10592529

### (2)研究分担者

該当なし

### (3)連携研究者

中野 貴由 (NAKANO, Takayoshi)  
大阪大学・大学院工学研究科・教授  
研究者番号: 30243182