

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料  
〔平成28年度研究進捗評価用〕

平成25年度採択分  
平成28年3月18日現在

骨配向化誘導のためのマテリアルポーンバイオロジー  
Induction of anisotropic bone tissues based on  
combination of materials science and bone biology

課題番号：25220912

中野 貴由 (NAKANO TAKAYOSHI)

大阪大学・大学院工学研究科・教授



研究の概要

骨機能の大部分を決める正常な骨配向化組織の回復は、最先端の骨再生手法を駆使しても困難であるため、骨配向化機構の基本原則からの解明が必須である。本研究では、材料・生物学的手法を駆使し、骨系細胞分化を調整すると認識されてきた遺伝子が、実際には骨配向化に深く関与することを発見するとともに、骨配向化を促進する数種の骨代替材料の創製に成功した。

研究分野：材料工学

キーワード：生体・医療・福祉材料、骨配向化機構

1. 研究開始当初の背景

正常な骨配向化組織の回復は、最先端の骨再生手法を駆使しても困難である。骨配向性の回復には、異方性を強く意識した材料工学をベースとした異分野融合による新規骨代替材料の開発が不可欠である。そのためには、[骨配向化機構を基本原則から解明することが必須であり、その知見に基づき骨配向化誘導材料の開発を行う必要](#)がある。

2. 研究の目的

本研究では、(A) 生物学的観点からの、遺伝子・分子、骨系細胞、骨組織レベルでの骨配向化機構の本質的な解明、(B) 骨配向化機構を人為的に再現しつつ、骨組織に異方性を誘導する新規骨代替材料の創製、という[両輪からの研究展開を行い、最終的には、「材料工学」と「生物科学」の異分野融合から「マテリアルポーンバイオロジー」の学理構築](#)を目指す。

3. 研究の方法

骨配向化機構を本質的に解明し、配向化機構を人為的に再現しつつ骨配向化誘導を可能とする新たな骨代替材料の創製を達成するため、以下の具体的課題を解決する。

(A) 骨配向化機構を遺伝子・分子、骨系細胞、配向化組織レベルから解明（[骨配向化機構解明](#)）

- (1) 遺伝子・分子レベル：特定シグナル・遺伝子・細胞骨格形成たんぱく等々に注目
- (2) 骨系細胞レベル：OCY（オステオサイト）の形態・配列、骨芽細胞遊走等々に注目

(3) 骨組織レベル：*in vivo*（生体内）応力、構造パラメータ・材質パラメータの観点から骨力学特性に注目

(B) 骨配向化誘導を可能とする新たな骨代替材料創製（[骨配向化促進材料の創製](#)）

(4) 配向化誘導材料の創製：配向化表面創製や配向化基材の開発と細胞相互作用解明

(5) 骨配向化促進のための細胞増殖因子の導入：骨系細胞分化誘導・骨代謝回転・石灰化促進

4. これまでの成果

H25 から 27 年度にかけて、[当初の予定を遙かに上回る骨配向化機構の決定因子や骨配向化材料に関する世界的な成果](#) が生まれた。[公表可能な範囲](#)にて以下に紹介する。

(A) 骨組織レベルでの骨配向化機構の解明

材料工学的手法を駆使し、ラット長管骨への *in vivo* 強制負荷モデルの構築に成功し、世界に先駆けて、以下の知見を得た。

① 骨は人為的負荷応力に応じたアパタイト優先配向構造を構築し、その配向度は負荷ひずみと強く相関する

② 荷重骨は、一定の閾値まで骨密度をほとんど変化せず、強く配向化した骨組織を任意に構築することができる。

こうした成果は、[荷重負荷量に合わせた緻密な骨機能調整が骨密度ではなく配向性によって担われていることを意味](#)する。さらには、配向性構築には、3次元応力状態を検知可能なセンサーとしての [オステオサイト細胞（OCY）が極めて重要であり、幾つかの形態的パラメータ（詳細は論文投稿中）が支配](#)

していることを解明した。

#### (B) 遺伝子・分子・細胞レベルでの骨配向化機構の解明

骨配向化機構は遺伝子・分子レベルにて解明する必要があるため、(A)の知見に基づきオステオサイト配列異常・アパタイト結晶配向性異常(当研究室で発見)を呈する数種類の遺伝子組み換えマウスに着目した研究を実施し、配向化決定の特定候補遺伝子を見出すとともに、その他経路についても継続的に同定を行っている。

特定のビタミンの授受経路や破骨・骨芽細胞の分化や活性化を調整すると認識されてきた遺伝子が、実際には骨配向化に深く関与することを発見した。最終的には創薬までもターゲットに入ってきた。

#### (C) 骨配向化誘導を可能とする新たな骨代替材料の創製

骨配向性は機能性分子を介したシグナル伝達に基づく骨芽細胞配列化により達成されることも明らかとなった。その結果に基づき、骨芽細胞へ積極的に働きかけ、骨配向化を誘導可能な新規の骨代替材料創製に取り組むことで、幾つかの骨配向化手法を提案した(文献[2],[3],[5]など)。

一例としてレーザーの干渉によるナノメートルスケールの配向溝(LIPSS:金属基板レーザー誘起周期表面構造)の導入が、接着分子インテグリンの集積化による活発な細胞-金属表面相互作用を促した結果を示す(図1)。従来の常識を覆し、骨芽細胞に直交するコラーゲン/アパタイト結晶配向化構造の制御に世界で初めて成功した。

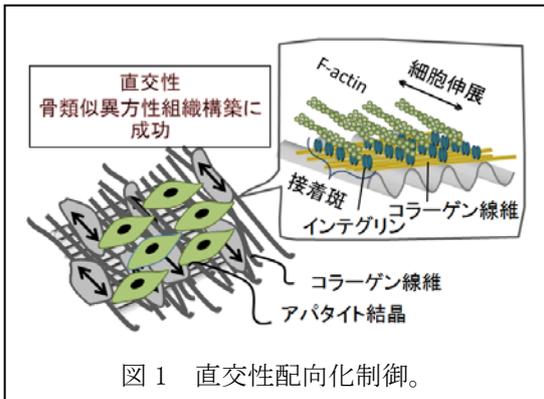


図1 直交性配向化制御。

材料工学と生物学などの有機的連携をベースとした現状の研究実施体制により、当初計画した以上の成果が得られるとともに「マテリアルボーンバイオロジー」の学理構築が高い確率で完成するめどが立ってきた。

#### 5. 今後の計画

平成27年度までの成果に基づき、「骨配向化機構の遺伝子・分子・骨系細胞・骨組織レベルからの解明」と、配向化機構に基づく「骨配向化誘導を可能とする新規骨代替材料の創製」を両輪として研究を計画している。骨

配向化機構解明は当初予定を上回る進展を得ていることから、配向化誘導材料の創製に重点を置きつつ、以下(A)~(E)の5つの大項目に分けて実施するとともに、骨がん転移の配向性をターゲットとした研究を平成28年度より新たにスタートする。(A)遺伝子・分子レベルでの配向化機構解明、(B) *in vivo* 応力分布制御や配向化・異方化足場材料を用いた新生骨への配向化付与、(C)配向化機構、骨系細胞同士の相互作用を制御した材料開発、(D)骨配向化促進材料の生体内での力学的挙動解析と最適化、(E) *in vivo* がん骨転移モデルによる転移骨の骨質変化の解明。

#### 6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

- [1] J.W. Lee, A. Kobayashi, T. Nakano: Crystallographic orientation of the c-axis of biological apatite as a new index of the quality of subchondral bone in knee joint osteoarthritis, *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, (2016), doi:10.1007/s00774-016-0754-y.
  - [2] A. Matsugaki, G. Aramoto, T. Ninomiya, H. Sawada, S. Hata, 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.
  - [3] T. Nakano, T. Ishimoto: Powder-based additive manufacturing for development of tailor-made implants for orthopedic applications, *KONA Powder and Particle Journal*, 32 (2015), pp. 75-84.
  - [4] G.A. Sathi, A. Matsugaki, T. Ishimoto, T. Nakano, T. Matsumoto, et al.: Early initiation of endochondral ossification of mouse femur cultured in hydrogel with different mechanical stiffness, *Tissue Engineering Part C Methods*, 21 (2015), pp. 567-575.
  - [5] M. Yamamoto, A. Hokugo, Y. Takahashi, T. Nakano, M. Hiraoka, Y. Tabata: Combination of BMP-2-releasing gelatin/ $\beta$ -TCP sponges with autologous bone marrow for bone regeneration of X-ray-irradiated rabbit ulnar defects, *Biomaterials*, 56 (2015), pp. 18-25.
- 以上を含む、原著論文: 76報、解説論文: 50報、国際会議論文: 4報、著書: 11冊、特許: 3件、学会発表: 270件(内 基調講演 21件、招待講演: 41件)、受賞: 30件の関連業績。

©ホームページ等

<http://www.mat.eng.osaka-u.ac.jp/msp6/nakano/>