

配向化骨誘導型人工骨臓器研究の最前線

大阪大学大学院工学研究科マテリアル生産科学専攻

松垣 あいら, 中野 貴由

Aira MATSUGAKI, Takayoshi NAKANO



松垣 あいら



中野 貴由

1. はじめに

人工臓器は失われた組織・臓器の機能を「代替」するにとどまらず、分子・細胞スケールから働きかけ、生体と一体化しその機能を導く、いまや先端医療革新に必要な不可欠な医療用デバイスである。人工関節や骨固定材、椎体ケージ、および欠損骨に充填する骨補填材などは、いずれも失われた骨・関節機能を再建するための人工骨臓器であり、現在増加の一途をたどる骨関節疾患の治療に欠かすことのできない医療機器である(図1)。人工骨臓器は金属をはじめセラミックス、高分子を含むバイオマテリアルにより構成され^{1),2)}、とりわけ、金属系材料はその優れた力学特性から骨医療デバイスに不可欠な役割を担う³⁾。金属系材料の医療用途としての適用は古くは1895年に遡り⁴⁾、その後、力学的・化学的および生物学的な生体適合性を確保するための新合金や表面処理方法の開発が積極的に取り組まれてきた^{5),6)}。

さらに近年では、電子論に基づいた超多成分系合金の設計により生体適合性機能の自在制御が可能な新合金BioHEA(バイオハイエントロピー合金)の開発^{7)~9)}や、金属3Dプリンタを駆使することで、複雑形状の造形のみならず、原子レベルでの結晶配向制御に基づいた金属系バイオマテリアルによるインプラントの高機能化が急速な進展をみせている^{10)~12)}。一見、生体組織と大きく異なる特性をもつ金属材料であるが、単結晶化を含む原子配置の制御は、骨に類似した力学特性の異方化をもたらし、金属系材



図1 代表的な人工骨臓器の例
(帝人ナカシマメディカル株式会社より提供)

料の特性を最大限に引き出しつつ生体と調和した人工骨臓器開発へとつながっている^{13)~15)}。これは、骨に要求される複雑な3次元 *in vivo* 応力分布に適応した力学機能発現が、骨のコラーゲン/アパタイト配向化微細構造(骨配向性)に基づき発揮されることに由来する¹⁶⁾。人工物でありながら、あたかも生体組織の一部として取り込まれ、機能発揮する人工骨臓器実現には、骨配向性が形づくられ機能するための仕組みを理解した上で、その機序を人為的にコントロールし、積極的に発現するための材料創製が求められる。医療デバイス埋入による新生骨の配向化誘導には、応力場の制御やそれに対応した細胞間での情報伝達、さらにはデバイス—生体界面での細胞の異方性制御が鍵を握る。本稿では、筆者らの研究室で主として実施されている、配向化制御による骨機能化を導くための人工骨臓器研究の最新の動向について概説する。

2. 骨機能化を支配する骨の配向化微細構造

人工骨臓器には、再建骨の量的充填のみならず、構造的な回復による「骨質」の修復力が求められる。骨質は、米国立衛生研究所(National Institutes of Health, NIH)により骨密度以外の骨強度を支配する因子として提唱された概念であり¹⁷⁾、筆者らは、材料工学的観点に基づき、コラーゲ

■ 著者連絡先

大阪大学大学院工学研究科マテリアル生産科学専攻
(〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-1)
E-mail: nakano@mat.eng.osaka-u.ac.jp

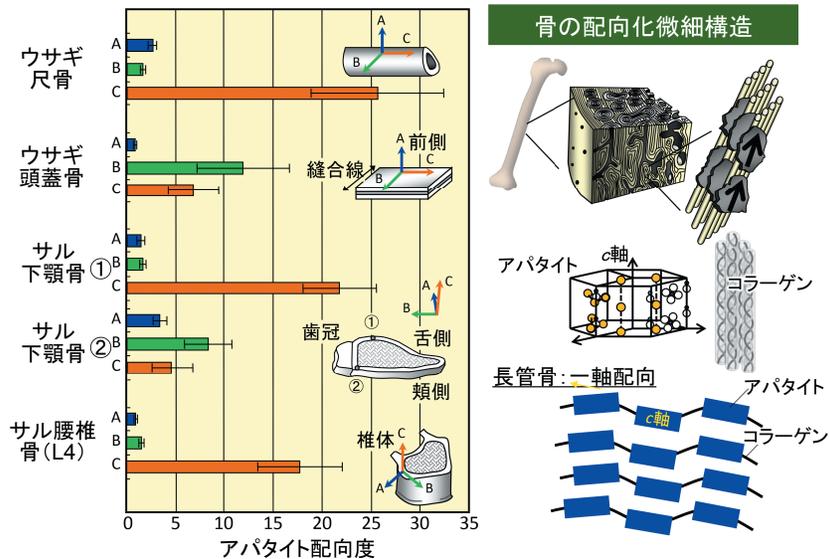


図2 皮質骨における特異なアパタイト結晶c軸の解剖学的部位依存性¹⁶⁾
 正常な皮質骨では、*in vivo* 応力に依存して異方性アパタイト結晶の骨基質内での配向性が決定される。

ン／アパタイトからなる骨組織が示す特有の3次元配向性構造が、求められる方向に必要な力学機能の発揮を可能とする重要な骨質因子の1つであることを見出している¹⁶⁾。これは、コラーゲンおよびアパタイトが、ともに高度な力学異方性を示す構造・機能性材料であることに由来する。コラーゲンは3重らせん構造の分子が線維化した高次構造に、アパタイトは六方晶系の結晶構造に由来する力学異方性を発現することから、骨はその配向化微細構造に基づいた力学機能を発揮する¹⁸⁾。

こうした骨の結晶学的異方性は、解剖学的部位に応じて大きく異なる。図2には、尺骨、頭蓋骨、下顎骨、腰椎骨の皮質骨部における代表的な3方向でのアパタイト結晶c軸配向度を示す¹⁶⁾。尺骨や腰椎骨では荷重方向に基づいた一軸的応力負荷に応じて、骨長軸・頭尾軸に沿った優先配向性を示す。一方、下顎骨は咀嚼荷重に応じた3次元配向性分布を示し、*in vivo* 応力分布と骨配向性の密接な関係性を示唆している。しかしながら、こういった骨配向性の自発的な再構築は困難であり、その再生は骨密度に大幅に遅れて回復する¹⁹⁾。再建骨機能化のためには、失われた骨配向性の修復を人為的に誘導する医療デバイス創製が必要不可欠であり、異方化機能発現のための人工臓器開発が強く求められる。

3. 骨配向化微細構造制御のための人工骨臓器の開発

応力場は骨配向性を規定する主要な外場の1つであり、筆者らはデバイス周囲骨での応力分布を制御する配向溝の

設計・導入により、溝内への配向化骨誘導を可能とする骨インプラントを実現した²⁰⁾。図3aには最大主応力方向に基づく人工股関節インプラントの表面設計を示す。人工股関節ステム表面に -60° , 0° , $+60^\circ$ 方向への配向溝を導入すると、溝角度 $+60^\circ$ 内の骨の主応力ベクトルは溝に平行に分布し、周囲の骨の主応力ベクトルとほぼ平行となる。イヌ大腿骨への埋入試験により、期待どおり溝角度 $+60^\circ$ 内でのみ主応力ベクトルに沿った高配向化骨の再建に成功した(図3b)。これは、骨へ主応力の連続的な伝達を起点とし、骨中オステオサイトの応力感受が健全な配向化骨形成を導いたことによる(図3c)。

こうした骨配向化を期待できる溝構造の導入された人工股関節については、2018年に薬事承認を受け²¹⁾、歯科インプラントについても2017年に、骨配向化誘導設計が施されたインプラントが薬事承認・上市されている²²⁾。さらに、2021年4月には骨配向化誘導が可能な脊椎固定用デバイス「UNIOS(ユニオス) PLスパーサー」(帝人ナカシマメディカル)が薬事承認、7月には上市された(図4)²³⁾。椎体骨との接触面に金属3Dプリンタによる特殊微細構造(ハニカムツリーストラクチャー, HTS)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²⁴⁾。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^{25),26)}。これは人工材料表面の異方性構造が細胞骨格・接着の異方性をもたらす、配向化したコラーゲン産生、さらにはオス

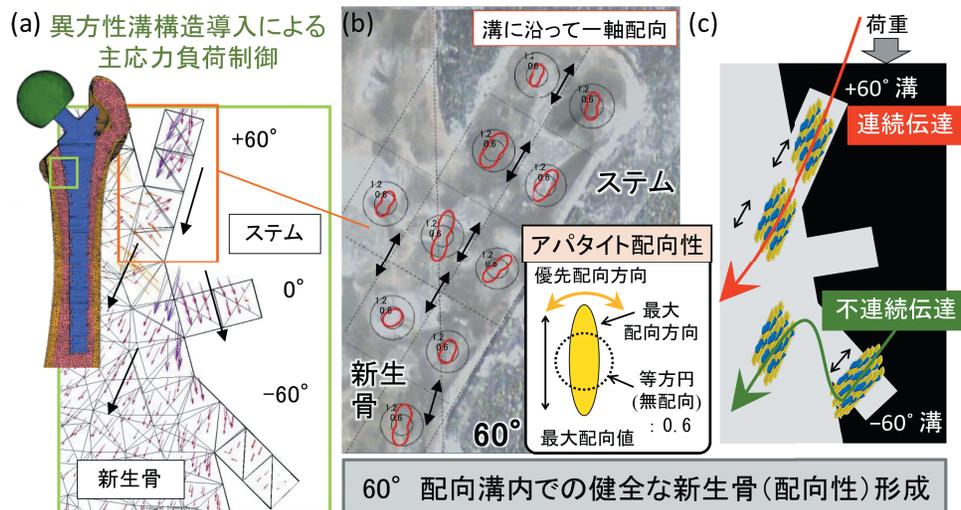


図3 溝形成による配向化骨誘導人工関節²⁰⁾

(a) 配向溝を有する股関節インプラントの主応力ベクトル分布図。(b) 60°配向溝内での配向化骨形成。(c) 主応力の流れを継続することで、応力負荷に基づく骨の配向化を実現した。

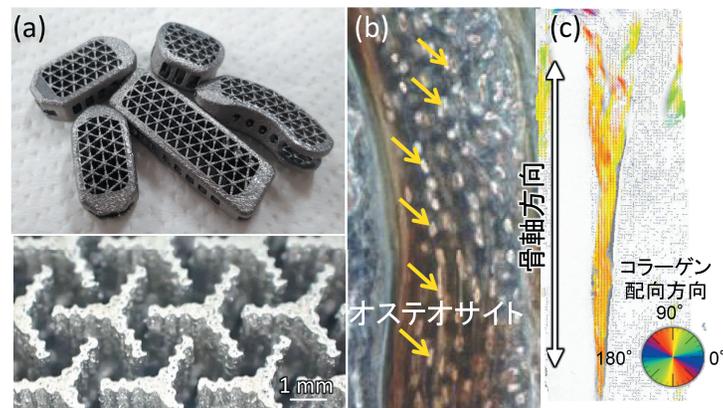


図4 配向性に着目した脊椎固定用デバイス

(a) 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)。デバイス埋入により、頭尾軸方向に (b) オステオサイトが優先配列化し、(c) 配向化したコラーゲン線維を形成する。

テオカルシン存在下でのアパタイト結晶のエピタキシャル成長²⁷⁾に基づき骨基質集合組織形成を導く²⁸⁾。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をも可能である²⁹⁾。

加えて、近年、生きた細胞やタンパク質の任意配置制御により、臓器や組織の立体造形を可能とするバイオプリンティング技術も目覚ましい発展を見せている。筆者らはコラーゲン配向化と細胞配置制御を3次元複合化することで、配向化ミニ骨臓器を創製した(図5)³⁰⁾。ミニ骨臓器内部では応力感受細胞オステオサイトが3次元的に細胞突起を伸展したネットワーク構造を構築している。骨に荷重された応力は、骨内部に張り巡らされた、体液の流路である骨

細管網内の流体流動としてオステオサイト表面のインテグリン分子が感受、骨芽細胞や破骨細胞へと生化学シグナルを伝達することで骨リモデリングを調整する。ミニ骨臓器内部のオステオサイトは流動刺激に反応して突起構造を改変し、さらには骨芽細胞との情報伝達により、配向化のための生物シグナルの起点となることが示された。さらには、異方性材料を足場とすることで、iPS細胞(induced pluripotent stem cells, 人工多能性幹細胞)を用いて、幹細胞から直接配向化骨を創製することも可能である³¹⁾。こういった細胞プリンティングによる配向化人工骨臓器は、金属系バイオマテリアルとの融合により力学的強度を兼ね備えた骨補填材料としても実現可能であり、早期の配向化再生骨の実現に有効であるのみならず、薬効評価や動物代替

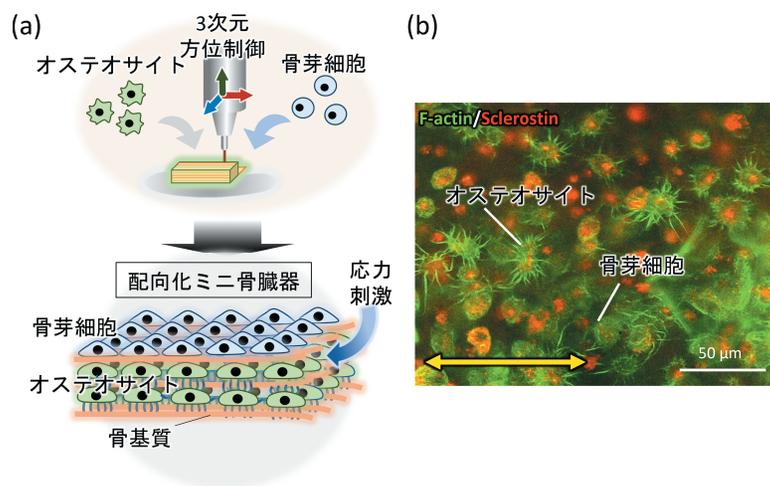


図5 バイオプリンティングによる配向化ミニ骨臓器の作製³⁰⁾
 (a) 単一細胞・タンパク質の滴下配置制御による3次元配向化骨の作製。(b) 作製したミニ臓器内部では3次元的に骨芽細胞・オステオサイト機能を制御可能である。矢印はコラーゲン配向化方向を示している。

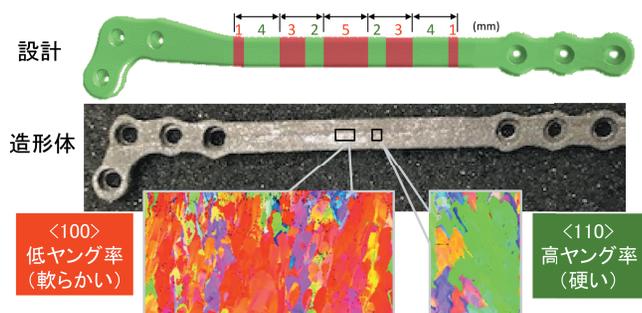


図6 原子レベルでの制御に基づいた人工骨臓器の高機能化
 部位依存的に弾性率特性を変えたボーンプレート。骨折部は低弾性率(赤色)に、スクリュー部は高弾性率(緑色)に制御している。

試験のシステムとしての活用も大いに期待される。

4. おわりに

骨の健全な力学機能発揮に必要不可欠であるコラーゲン／アパタイト配向性構造に注目し、骨健全化のための人工骨臓器研究について紹介した。配向化骨誘導型人工骨臓器は、単に骨を置換するだけではなく、骨の階層化異方性に基づく高次機能化を引き出し、次世代骨医療を切り拓く大きな役割と期待を担う。これまでの骨医療には存在しえない概念であった骨配向性を考慮した人工骨臓器の実現は、骨の「量」から「質」へと視点を変える医療革新を導くものと確信している。とりわけ、金属3Dプリンタを駆使したインプラントの骨配向性制御は、ヤング率をはじめとする骨力学機能の異方化により、デジタルトランスフォーメーション(DX)技術とも相まって、骨部位や患者ごとにカスタム

化された人工骨臓器の提供をも可能とする³²⁾。

具体的な例として、図6には β 型Ti(チタン)合金製の骨代替インプラントを示す。中央の骨折部位では応力遮蔽を避けるため骨軸に対し低弾性率の原子配列を、スクリュー固定する部位は高弾性率の結晶配向性を導入することが必要であり、金属3Dプリンタによる部位ごとの特性制御により生体骨に調和した配向化骨誘導型人工骨臓器を実現できる。

筆者らのこれまでの研究により、骨配向性は、応力をはじめとする外部環境や生体内環境と密接に関係し、細胞レベル、さらには分子・遺伝子レベルからの配向化機序が明らかになりつつある。こうした骨の配向化に基づく機能適応を理解し、人工骨臓器へと適用することで、材料工学的観点からの新しい骨医療展開が可能となる。

謝辞

本稿で紹介した研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(S)「骨異方性誘導のための『異方性の材料科学』の構築」(研究代表者：中野貴由)(平成30年度～令和4年度)ならびに内閣府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(三島良直プログラムディレクター)(管理法人：科学技術振興機構)の支援により実施された。ここに謝意を示します。

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。

文 献

- 1) 山岡哲二, 大矢裕一, 中野貴由, 他: バイオマテリアルサイエンス 第2版. 東京化学同人, 東京, 2018
- 2) 吉川秀樹, 中野貴由, 松岡厚子, 他(編): 未来型人工関節を目指して. 日本医学館, 東京, 2013
- 3) 埴 隆夫(編): 医療用金属材料概論, 日本金属学会, 宮城, 2010
- 4) Lane WA: Some Remarks on the Treatment of Fractures. *Br Med J* **1**: 861-3, 1895
- 5) Kuroda D, Niinomi M, Morinaga M, et al: Design and Mechanical Properties of New β Type Titanium Alloys for Implant Materials. *Mater Sci Eng A* **243**: 244-9, 1998
- 6) Bhattacharya SK, Sahara R, Suzuki S, et al: Mechanisms of oxidation of pure and Si-segregated α -Ti surfaces. *Appl Surf Sci* **463**: 686-92, 2019
- 7) Todai M, Nagase T, Hori T, et al: Novel TiNbTaZrMo high-entropy alloys for metallic biomaterials. *Scr Mater* **129**: 65-8, 2017
- 8) Hori T, Nagase T, Todai M, et al: Development of non-equiatom Ti-Nb-Ta-Zr-Mo high-entropy alloys for metallic biomaterials. *Scr Mater* **172**: 83-7, 2019
- 9) Nagase T, Iijima Y, Matsugaki A, et al: Design and fabrication of Ti-Zr-Hf-Cr-Mo and Ti-Zr-Hf-Co-Cr-Mo high-entropy alloys as metallic biomaterials. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* **107**: 110322, 2020
- 10) Ishimoto T, Hagihara K, Hisamoto K, et al: Crystallographic texture control of beta-type Ti-15Mo-5Zr-3Al alloy by selective laser melting for the development of novel implants with a biocompatible low Young's modulus. *Scr Mater* **132**: 34-8, 2017
- 11) Todai M, Nakano T, Liu T, et al: Effect of building direction on the microstructure and tensile properties of Ti-48Al-2Cr-2Nb alloy additively manufactured by electron beam melting. *Addit Manuf* **13**: 61-70, 2017
- 12) Hagihara K, Ishimoto T, Suzuki M, et al: Factor which governs the feature of texture developed during additive manufacturing; clarified from the study on hexagonal C40-NbSi₂. *Scr Mater* **203**: 114111, 2021
- 13) Nakano T: Chapter 1. Selective Laser Melting. Kirihara S, Nakata K ed. *Multi-dimensional Additive Manufacturing*. Springer, Singapore, 2020, 3-26
- 14) Ikeo N, Fukuda H, Matsugaki A, et al: 3D puzzle in cube pattern for anisotropic/isotropic mechanical control of structure fabricated by metal additive manufacturing. *Crystals* **11**: 959, 2021
- 15) 松垣あいら, 石本卓也, 小笹良輔, 他: 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. *Precision Medicine* **4**: 245-54, 2021
- 16) 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* **31**: 479-87, 2002
- 17) NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy: Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA* **285**: 785-95, 2001
- 18) 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* **51**: 741-7, 2012
- 19) Ishimoto T, Nakano T, Umakoshi Y, 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* **28**: 1170-9, 2013
- 20) 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* **52**: 659-67, 2013
- 21) GS-Taperステム(医療機器製造販売承認番号: 22900BZX00364000). https://www.info.pmda.go.jp/downloadfiles/md/PDF/510462/510462_22900BZX00364000_A_01_03.pdf Accessed 13 Sep 2021
- 22) FINESIA BLフィクスチャー ファイナフィックス(医療機器承認番号: 22800BZX00034000). https://www.info.pmda.go.jp/downloadfiles/md/PDF/230934/230934_22700BZX00253000_A_02_03.pdf Accessed 13 Sep 2021
- 23) 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 Accessed 13 Sep 2021
- 24) Ishimoto T, Yamada K, Takahashi H, et al: Trabecular health of vertebrae based on anisotropy in trabecular architecture and collagen/apatite micro-arrangement after implantation of intervertebral fusion cages in the sheep spine. *Bone* **108**: 25-33, 2018
- 25) Matsugaki A, Fujiwara N, Nakano T: Continuous cyclic stretch induces osteoblast alignment and formation of anisotropic collagen fiber matrix. *Acta Biomater* **9**: 7227-35, 2013
- 26) Matsugaki A, Aramoto G, Nakano T: The alignment of MC3T3-E1 osteoblasts on steps of slip traces introduced by dislocation motion. *Biomaterials* **33**: 7327-35, 2012
- 27) Moriishi T, Ozasa R, Ishimoto T, et al: Osteocalcin is necessary for the alignment of apatite crystallites, but not glucose metabolism, testosterone synthesis, or muscle mass. *PLoS Genet* **16**: e1008586, 2020
- 28) Matsugaki A, Aramoto G, Ninomiya T, et al: Abnormal arrangement of a collagen/apatite extracellular matrix orthogonal to osteoblast alignment is constructed by a nanoscale periodic surface structure. *Biomaterials* **37**: 134-43, 2015
- 29) Nakanishi Y, Matsugaki A, Kawahara K, et al: Unique arrangement of bone matrix orthogonal to osteoblast alignment controlled by Tspan11-mediated focal adhesion assembly. *Biomaterials* **209**: 103-10, 2019
- 30) Matsugaki A, Matsuzaka T, Murakami A, et al: 3D Printing of anisotropic bone-mimetic structure with controlled fluid flow stimuli for osteocytes: Flow orientation determines the elongation of dendrites. *Int J Bioprint* **6**: 293, 2020
- 31) Ozasa R, Matsugaki A, Isobe Y, 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* **106**: 360-9, 2018
- 32) 小笹良輔, 石本卓也, 松垣あいら, 他: 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. *BIO Clinica* **36**: 66-72, 2021