材料工学的アプローチによる骨質研究

研究ノート

中野貴由*，馬越佑吉**

Study on bones by Materials Scientific Approach

Key Words : biological apatite, bone quality, hard tissue, bone regeneration, micro-beam X-ray diffraction

1．はじめに

最近，「医工連携」，「境界領域研究」，「異分野融合」といった言葉をしばしば耳にする．我々の21世紀COEプログラムでも，異分野間の連携・融合研究に重点を置いている．また，第三期科学技術基本計画では，異分野融合によるイノベーションが求められている．我々の研究グループは，こうした連携ブーム以前から標題に関する研究を進めている．その結果，医歯薬学系を中心に，それぞれ独自に得意分野を持つ20以上の研究グループと連携するに至った．本稿では，我々の持つ材料工学的立場と医歯薬系を中心とした異分野との連携によって生み出されつつある，骨質研究について紹介する．

*Takayoshi NAKANO
1967年9月生
1992年大阪大学大学院工学研究科金属材料工学専攻修士課程修了
現在，大阪大学大学院工学研究科マテリアル生産科学専攻（材料機能学講座結晶物性工学領域），助教授，博士（工学），結晶塑性学，結晶物性工学，生体材料学
TEL 06－6879－7497
FAX 06－6879－7497
E-mail : nakano@mat.eng.osaka-u.ac.jp

**Yukichi UMAKOSHI
1944年4月生
1969年大阪大学大学院工学研究科冶金学専攻修士課程修了
現在，大阪大学理事・副学長，工学博士，結晶塑性学，材料強度学
TEL 06－6879－7494
FAX 06－6879－7495
E-mail : umakoshi@mat.eng.osaka-u.ac.jp

2．異分野融合研究のきっかけ

著者の一人は，今から丁度10年前，博士（工学）号を取得した．そのテーマは，「Ti-Al系金属間化合物の力学特性に関する研究」であり，新軽量耐熱材料としてのTi-Al系金属間化合物の特異な塑性変形挙動を，単結晶もしくは層状組織を一方向に制御した材料を用いて，結晶工学的手法を駆使して明らかにすることである．その最大関心事は，Ti-rich TiAl (γ/α_2)二相結晶における塑性変形機構の解明であった[1]．その中で，構成相のα_2相は，六方晶をベースとする異方性の強い$D0_{19}$型構造であることから，僅か10vol.%程の存在で，二相材料の塑性挙動を支配することを見出した．その結果，この異方性結晶を如何に配列させるかが，この材料の特性改善のための優先研究課題であるとともに，この経験がその後の医歯工連携研究を提案する際のきっかけとなった．すなわち我々が注目する生体内のアパタイトは，α_2相と同じ六方晶をベースとする異方性の強いイオン結晶であり，この結晶学的知識が骨関連研究に活かされた．

3．「骨量」と「骨質」

骨や歯に代表される生体硬組織と金属をベースとする航空宇宙材料との間には，一見何の共通項もないように見える．ところが，硬組織の主成分は，イオン結晶としての生体アパタイト（BAp : Biological Apatite）であり，原子間には異方性の結合が存在し，いずれも構造材料として機能するなど，実は共通点が多い．こうした硬組織の評価は，現状では，レントゲンやCT等によってアパタイトの密度（BMD : Bone Mineral Density），すなわち「骨量」を基準にして行われる．しかしながら，BApが，六方晶をベースと

する異方性の強いナノ結晶子であることに注目すれば，その結晶配列分布(c軸配向性)を解析することで，硬組織の微細構造，いわゆる「骨質」を評価できる[2]．

一方で，近年の再生医工学技術の進歩は，従来であれば再生不可能とされた組織であっても，見かけ上の組織回復を可能としている．さらに，骨粗しょう症をはじめとする骨疾患に対する治療法も豊富になってきた．しかしながら，NIH(米国国立衛生研究所)の提言をはじめ，硬組織の力学機能を説明するためには，従来の「骨量」のみの評価では不十分で，「骨質」指標を探索する必要性が指摘されるようになった．こうした背景から，硬組織の解析に対して，最新の医学的手法，分子生物学的手法に加えて，材料工学的手法が適用されることは，必須であった．

4．骨の微細構造と材料工学的アプローチ

硬組織は，BApとタイプⅠコラーゲン(Co.)で大部分の体積率を占め，骨系細胞により骨の再構築が行われている．このBAp結晶は異方性構造を示すだけでなく，そのc軸は，線維状コラーゲンの走行方向と良く一致する[3]ことから，BApの3次元的なc軸配向分布を「骨質」指標とすることは，Co.をも含めた硬組織全体の微細構造の異方性を理解することにもつながる．我々のグループでは，微小領域X線回折法(入射X線径：20～100μmϕ)や電子線回折法を利用することで，BAp/Co.の配向性を中心とした結晶工学的アプローチを行うとともに，ナノインデンテーション法をはじめとする材料工学的アプローチにより様々な状態での硬組織に対する研究，さらには新規生体材料の開発をスタートした．

5．皮質骨・海綿骨の配向性

皮質骨は部位に応じて様々な形状を示し，*in vivo*(生体内環境下)での負荷応力分布が異なる．それに対応して，BApのc軸配向性は，皮質骨部位，方位によって異なる．例えば，図1に示すように，代表的な皮質骨部位におけるBApのc軸は，部位に応じた特有の優先配向性を示す[4]．尺骨(長管骨)，下顎骨，椎骨では，いずれもC方向に沿った一軸的な優先配向性を示すが，扁平骨である頭蓋骨では，B, C方向を含む骨面に沿った2次元配向性を示す[4,5]．こうした特徴的な配向は，*in vivo*での応力分布と深く関わっており，優先配向軸が，*in vivo*での最大荷重軸方位となり，局所応力分布の影響をも反映する．こうしたBAp配向は，海綿骨でも認められ，骨梁伸展方向に沿った優先配向により，荷重支持機能を発揮するようになる．こうした配向化の起源は，エストロジェン(女性ホルモンの一種)投与オスウズラモデルにより証明され，Ca代謝から荷重支持への機能変化と強く相関することも明らかになっている[6]．

6．再生医学的手法による骨再生と配向性変化

再生医学技術の目覚しい進歩は，過去には再生不可能とされた巨大骨欠損部の修復さえも可能としている[7]．ただし，高速にしかも強制的に再生された組織が，元の構造・機能を取り戻しているかどうかの保証はない．こうした中，BAp配向性は，硬組織の応力分布や機能を表す指標として敏感であることから，再生組織における機能・構造の評価法として，さらには組織再生過程の解明に対して有力である[7]．

図2には，その一例として，ウサギ尺骨の10 mm完全欠損部を，20週間自然治癒させた場合の，再生部近傍での骨形態，負荷応力分布，BMD，BApのc軸配向性，ヤング率を示している[8]．この際，再生部でのBMDは，正常部まで回復し，ほぼ一定値である．

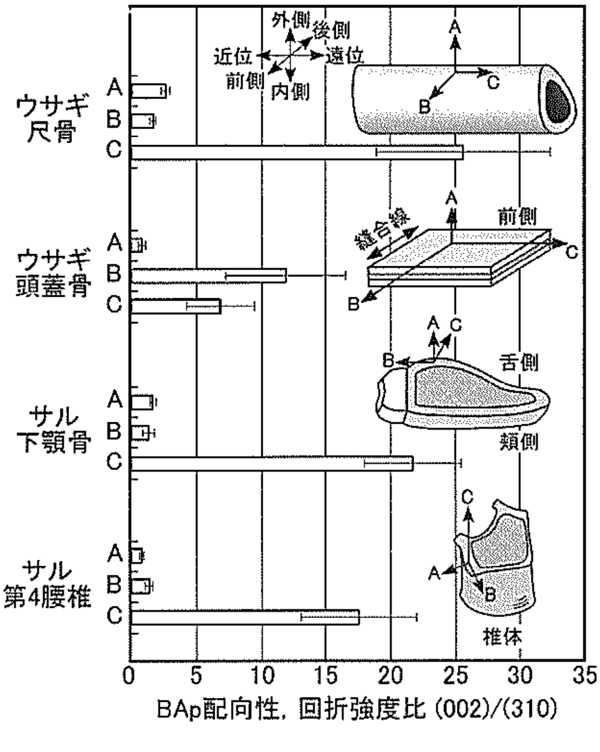

図1　代表的な生体硬組織皮質骨部位での
生体アパタイト(BAp)結晶の配向性分布．

ところが，BAp配向性は，再生部位に強く依存し，応力分布，さらにはヤング率と強く相関する．つまり，「*in vivo*応力分布⇔BAp配向性⇔ヤング率の異方性」という関係が導かれ，メカノセンサーとしての骨細胞(OCY：Osteocyte)の働きが注目される．さらに，巨大骨欠損を再生医工学的手法で修復した際には，ヤング率の回復は，骨再生初期のみ骨密度に依存するが，リモデリングスタート以降では，BMDより，むしろ配向性に強く相関する．つまり，ヤング率に代表される再生骨の力学機能は，骨密度よりはむしろ配向性に対して敏感であり，配向性が「骨質」を表す指標として極めて重要であることを示している．

7．疾患硬組織の配向性と遺伝子組み換え技術を用いた骨質解析

疾患硬組織においても，配向性は，疾患程度の判定や病理解明の指標として利用できる．さらに遺伝子工学や分子生物学を利用した疾患動物の解析は，遺伝子機能の解析や生体内での分子，細胞レベルでの情報伝達経路を明らかにすることを可能としている．我々のグループでは，高齢化社会の難病として知られる変形性膝関節症(OA：Osteoarthritis)や骨粗しょう症(Osteoporosis)等の疾患硬組織，さらには遺伝子組み換え動物での硬組織を対象として，硬組織内での配向化機構の解析を行っている．

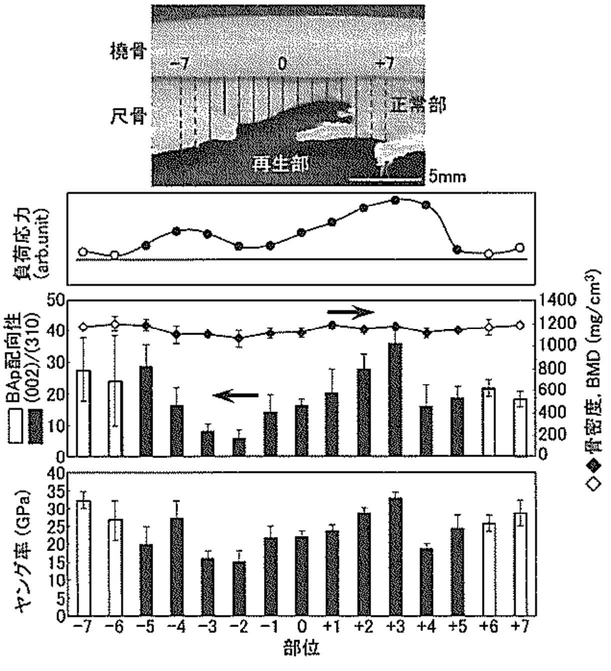

図2　ウサギ尺骨欠損自然治癒モデル(10mm欠損)における20週後の骨再生部外観と各部位での負荷応力分布(骨長手方向)，BMD(骨密度)分布，BApのc軸配向性分布(骨長手方向)，ならびにヤング率(骨長手方向)．

OAでは，軟骨の変性にともなう下骨の露出が，下骨厚の増加，BMDの上昇に加え，関節面法線方向へのBAp高配向を引き起こし，骨硬化へとつながる[6]．また，骨粗しょう症の場合には，配向性は，原発性，続発性の要因に応じて，適正値からシフトする．このことを利用することで，病理解明のみならず，薬剤の開発，疾患の判定に至るまで幅広く適用できる．

一方，生体硬組織の配向化は，モデリング，リモデリング時の骨芽細胞(OB：Osteoblast)，破骨細胞(OC：Osteoclast)，骨細胞(OCY)といった細胞レベルで構築されることから，各骨系細胞の機能や発現をコントロールすることが重要であるものと考えられる．

例えば，骨溶解を担う破骨細胞の分化に注目した場合，M-CSFを欠損することで，破骨細胞はほとんど形成されず，骨形成過剰の大理石骨病のop/opマウスとなる[9]．一方，OPGのノックアウトにより破骨細胞数は逆に増加し，骨粗しょう症を発症する．こうしたマウスを用いることで，配向化機構におけるOCの役割を理解することができ，骨成長期の配向化には，OCの役割が極めて重要であることが既に判明している[10]．同様の方法により，硬組織内での分子，細胞レベルでの配向化機構に関する知見も医歯工連携の成果として解明されつつある．

8．おわりに

本稿では，医歯工連携の一例として，材料工学的技術を用いた正常硬組織，再生硬組織，疾患硬組織の骨質研究について紹介した．こうした連携の進展とともに，研究室内に自前の動物実験室を設置するなど，従来の金属材料研究とは異なる施設の整備がなされてきた．ただし，融合領域研究に対する理解や環境が整いつつある中，融合分野開拓のための秘訣は，自分の得意なフィールドに根ざした研究を行うことである．ともすれば，異分野の研究をそのまま取り入れがちであるが，境界領域研究とは，本来の個々の専門分野に基づき，相互の学理を融合することによって初めて，新しい学理の構築につながる

ものであると信じて疑わない．

尚，こうした骨関連研究は，馬越研究室のメンバーを中心に，山本雅哉先生・田畑泰彦教授(京大再生研)，橋本淳講師・吉川秀樹教授(阪大整形)，小林章郎講師・高岡邦夫教授(大市大整形)，中村孝志教授(京大整形)，鈴木昌彦先生(千葉大整形)，伊藤孝仁先生(阪大内科)，豊澤悟教授(阪大歯)，今里聡助教授・恵比須繁之教授(阪大歯)，松本卓也先生(阪大歯)，山本敏男教授(岡山大医歯薬)，宇田川信之教授(松本歯科大)，榎本昭二名誉教授(東京医歯大)，島原政司教授(大阪医大)，樋口裕一講師(大歯大)，岡崎正之教授(広大歯)，伊東昌子助教授(長崎大医)，池田恭治部長(国立長寿医療センター)，網塚憲生教授(新潟大超域研究機構)，斎藤充先生(東京慈恵医大整形)，金子博徳先生・戸山芳昭教授(慶応大整形)，中嶋英雄教授(阪大産研)，安田秀幸教授(阪大工)，新家光雄教授(東北大金研)，服部友一助教授(名城大理工)，高野直樹教授(立命大理工)，安達泰治助教授(京大工)，波多聰先生(九大総理工)等，各グループとの共同研究として実施されている．

参考文献

(1) Y. Umakoshi and T. Nakano : Acta Metal. Mater., 41 (1993) 1155.

(2) T. Nakano, Y. Tabata and Y. Umakoshi : Texture and Bone reinforcement. In Encyclopedia of Materials : Science and Technology - Updates, K. H. J. Buschow, R. W. Cahn, M. C. Flemings, E. J. Kramer, S. Mahajan and P. Veyssiere (Eds.), Elsevier, (2005) MS2061-1.

(3) W. J. Landis, M. J. Song, A. Leith, L. McEwen and B.F.McEwen : J.Struc. Biol., 110, (1993) 39.

(4) T.Nakano, K.Kaibara, Y.Tabata, N.Nagata, S.Enomoto, E. Marukawa and Umakoshi : Bone, 31 (2002) 479.

(5) N. Sasaki and Y. Sudoh : Calcif. Tissue Int., 60 (1997) 361.

(6) 中野貴由, 石本卓也, 李志旭, 馬越佑吉, 山本雅哉, 田畑泰彦, 小林章郎, 岩城啓好, 高岡邦夫, 山本敏男：バイオレオロジー学会誌，183(2004) 21.

(7) 中野貴由，馬越佑吉：再生医療へのブレイクスルーー医学から医療へー必要なものと今後の方向，「再生硬組織への結晶学的アプローチによる構造・機能評価～微小領域X線回折法を用いて～」田畑泰彦編，メディカルドゥー社，(2004) 215.

(8) T. Ishimoto, T. Nakano, Y. Umakoshi, M. Yamamoto and Y. Tabata : Mater. Sci. Forum, 512 (2006) 261.

(9) I.Nishino, N.Amizuka and H.Ozawa : J. Bone Miner. Metab., 19 (2001) 267.

(10) J.-W.Lee, T.Nakano, S.Toyosawa, N.Ijuhin, Y.Tabata, M.Yamamoto and Y.Umakoshi, Mater. Sci. Forum, 512 (2006) 265.

この記事をお読みになり，著者の研究室の訪問見学をご希望の方は，当協会事務局へご連絡ください．
事務局で著者と日程を調整して，お知らせいたします．
申し込み期限：本誌発行から２ヵ月後の月末日
申し込み先：生産技術振興協会　tel 06－6944－0604　E-mail seisan@maple.ocn.ne.jp
必要事項：お名前，ご所属，希望日時(選択の幅をもたせてください)，複数人の場合はそれぞれのお名前，ご所属，代表者の連絡先
著者の都合でご希望に添えない場合もありますので，予めご了承ください．