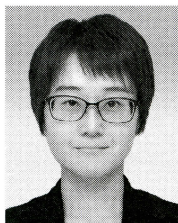


パーソナル骨質医療実現のための骨コラーゲン／アパタイト配向性評価とその制御

Analysis and control of collagen/apatite orientation as an index of bone quality parameters for personalized medicine of bone

- 1) 大阪大学大学院 工学研究科
Graduate School of Engineering
Osaka University
- 2) 神戸大学大学院 工学研究科
Graduate School of Engineering
Kobe University

まつがき いしもと たくや
松垣 あいら¹⁾・**石本 卓也**¹⁾
Aira Matsugaki Takuya Ishimoto
おざりょうすけ いけお なおこ
小笹 良輔¹⁾・**池尾 直子**²⁾
Ryosuke Ozasa Naoko Ikeo
なかの たかよし
中野 貴由¹⁾
Takayoshi Nakano



松垣 あいら
2013 年 大阪大学大学院 工学研究科 博士
後期課程修了
13 年 博士 (工学) (大阪大学)
13 年 大阪大学大学院 工学研究科
マテリアル生産科学専攻 特任助教
15 年 日本骨形態計測学会
学術奨励賞 受賞
17 年 日本金属学会 奨励賞 受賞
20 年 日本バイオマテリアル学会
科学奨励賞 受賞
20 年 大阪大学大学院 工学研究科
マテリアル生産科学専攻 助教



中野 貴由
1992 年 大阪大学大学院工学研究科 博士
前期課程 修了
92 年 大阪大学 助手
96 年 博士 (工学) (大阪大学)
99 年 大阪大学 講師
2001 年 フランス ONERA 研究所 研究員
03 年 大阪大学 助教授
08 年 大阪大学大学院工学研究科マテ
リアル生産科学専攻 教授 (現職)
17 年 大阪大学 栄誉教授
17 年 大阪府立大学 獣医学専攻 客員教授
20 年 大阪大学 工学研究科附属異方性カス
タム設計・AM 研究開発センター長 (兼任)

Key words パーソナル医療、骨質、アパタイト、コラーゲン、骨配向性、細胞配列、金属積層造形法、骨医療デバイス

Abstract

骨格系は患者個々における個人差が大きく、患者ごとにフィットした骨・骨関節治療および医療デバイス創製が必要とされる。病態や遺伝的背景に応じて求められる生体機能を最適化するには、骨機能化因子をモニタリングしつつ、治療効果を最大限に発揮するための骨医療デバイスのカスタム化が重要である。とりわけ、骨質因子のひとつであるコラーゲン線維／アパタイト結晶からなる骨基質の優先配向方向や配向度は、骨機能を支配する極めて重要な骨質因子のひとつである。骨配向化は生物学的機序に則り緻密に制御されており、筆者らは、いくつかの重要な骨配向化特異的マーカー因子を発見している。こういった生体内での生物学的機序理解に基づき骨配向化を実現するためには、デバイス／生体組織界面でその異方性を誘導する材料開発が求められる。とりわけ、骨質に関する個別化医療実現のためには、個人の骨格形状や疾患状態

に応じて配向化を回復させる手段としての金属積層造形法が注目される。本稿では、骨基質のコラーゲン／アパタイトの配向性に基づいた骨質医療のカスタム化実現を目指した、骨配向化機序の理解およびそれに基づく金属積層造形法の骨治療デバイスへの活用について解説する。



はじめに

骨の個別化医療実現には骨強度を予測し、病態や骨格に応じた治療薬および治療デバイスの選択が求められる。米国国立衛生研究所 (NIH: National Institutes of Health) より、骨強度の予測には骨密度 (BMD: Bone Mineral Density) 以外の骨強度を表す指標としての「骨質」パラメータの探索が必要であることが2000年に提言された¹⁾。それ以来、骨質指標として、骨梁構造、コラーゲン架橋、細胞活性、

マイクロラックなど様々な骨質指標^{2)~7)}が模索されてきた。筆者らは材料科学的視点から、骨基質としてのコラーゲン線維／アパタイト結晶の3次元配列を意味する骨基質配向性に注目し、その優先配向方向や配向度が骨質指標の一つとして極めて重要であることを示してきた⁸⁾。つまり疾患骨や再生骨の機能・強度診断には、従来から用いられているBMDの評価だけでは全く不十分であり、骨中のアパタイト結晶がもつ極めて異方性の強い六方晶系をベースとする結晶系に注目すべきである。すなわち、骨基質中のアパタイト結晶のc軸の優先配向方向とほぼ平行に走行するType I コラーゲンの配列が、骨組織の力学機能に代表される諸特性を支配する骨質指標となりうる^{8) 9)}。

本稿では、骨基質配向性の変化とその形成機構、さらには最新の金属積層造形技術を含む配向化の維持や制御のための方策について、骨基質配向化のカスタム化制御の重要性の観

点から我々のグループにおける最新の知見に基づき紹介する。

1. アパタイト結晶配向性を指標とした骨質評価

正常骨は、図1に示すように、解剖学的部位に応じた特異なアパタイト結晶のc軸配向性を示す⁸⁾。その特徴は、(1) 尺骨、下顎骨、腰椎骨では、それぞれ、骨軸方向、近遠心方向、頭尾軸方向に沿った1軸配向性を示す、(2) 頭蓋骨では、骨面に沿った2次元配向性を示し、縫合線や骨成長段階にも影響を受ける、(3) 咀嚼荷重の影響を受ける歯冠直下の下顎骨部では、咀嚼にともなう局所3次元応力分布を反映し変化する、(4) 海綿骨では、骨代謝回転を通じて骨梁に沿ったパケット構造に沿ってc軸配向性が形成される、などがある⁸⁾。すなわち正常な皮質骨や海綿骨では、*in vivo* 応力に適応したコラーゲン／アパタイトの優先

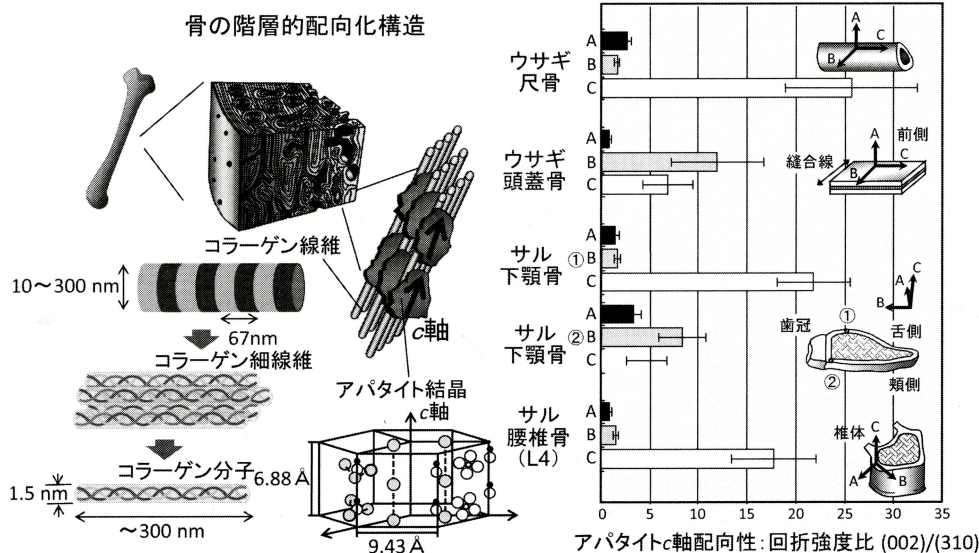


図1 骨の階層的配向化構造と、皮質骨における特異なアパタイト結晶 *c* 軸配向性の解剖学的部位依存性

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。
(文献 8 から改変引用)

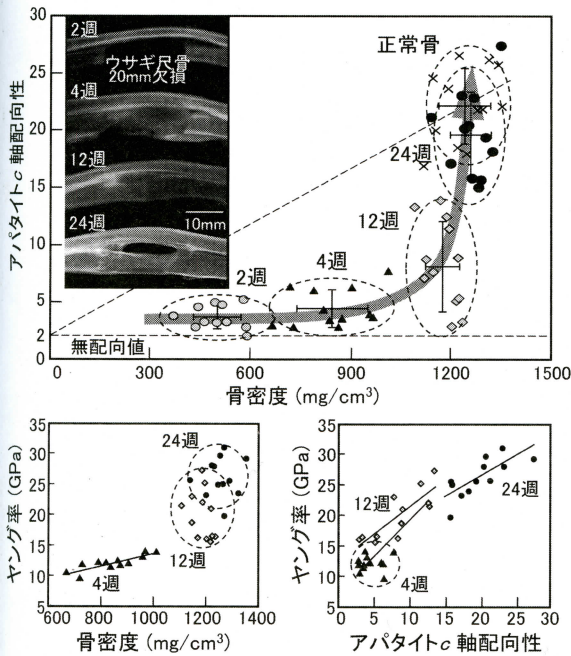


図2 ウサギ尺骨大欠損部における rhBMP2 徐放による骨密度 (BMD) とアパタイト *c* 軸配向性の骨再生にともなう変化過程

アパタイト配向性は BMD の再生に遅れて回復し、ヤング率 (骨強度の一種) はアパタイト *c* 軸配向性に強く支配される。(文献 11 から改変引用)

配向性を示し、力学機能の必要性に応じた骨微細構造を構築する。とりわけ、最大主応力ベクトル分布が3次元での配向性構築につながることから、正常骨の3次元配向分布は応力テンソル成分の影響を強く受ける骨質指標といえる。

アパタイト配向性は、再生骨の機能評価手法としても極めて有効である^{9)~11)}。図2には¹¹⁾、最先端の再生医療手法としての骨形成タンパク rhBMP2 のゼラチンハイドロゲルからの徐放による長管骨大欠損部での骨再生過程を示す。アパタイト結晶の *c* 軸配向性を指標とすることで、(1) 骨配向性指標の回復は BMD 再生に大きく遅れることから、BMD では代替することはできない、(2) 骨力学機能は、BMD よりも、骨基質配向性との間で強い

相関を示すこと、などが理解できる。この場合、力学機能は概ね7割がアパタイト配向性により支配されることから、新生骨形成過程にて、アパタイト配向性の重要性は極めて大きい。この際、メカノセンサー細胞としてのオステオサイト (OCY: Osteocyte) が、骨基質配向性の制御に対し重要な役割を担う¹²⁾。

多様な疾患骨においても、アパタイト配向性が敏感に変化することが解明されつつある^{13)~16)}。変形性膝関節症では、軟骨消失部での関節面法線方向への骨基質配向性は有意に上昇する¹³⁾。骨粗鬆症では、原発性骨粗鬆症と続発性骨粗鬆症 (Ca 欠乏食) のラット腰椎骨はともに骨量や BMD の低下を示すが、配向性の変動方向が全く異なる¹⁶⁾。こうした知見は、骨粗鬆症治療薬等の薬効評価にも有用であり、薬剤投与後の骨質改善効果の検証が可能となる¹⁷⁾。

2. アパタイト配向性に影響を与える多様な因子

六方晶系の異方性構造を持つアパタイト結晶の配向性は、コラーゲン線維の走行方向に対応しつつ¹⁸⁾、変化する。図3に示すように、疾患、骨再生、遺伝子変異等の様々な要因が、骨基質配向性に影響を与えることが理解されてきた^{9) 13)~16) 19)~21)}。骨基質配向性は、*in vivo* 応力をはじめとする外部環境、生体内環境さらには骨代謝回転などと密接に関係し、骨形成を担う骨芽細胞 (OB: Osteoblast)、骨吸収を担う破骨細胞 (OC: Osteoclast)、*in vivo* 応力を受感する OCY の細胞レベルでの働きに強く支配される。現在では情報伝達をつかさどる分子レベル、遺伝子レベルからの骨基質配向化機序や配向化支配因子の解明へと研究が進展している。とりわけ遺伝子機能を変異させたノックアウト (KO)、トランスジェニック (Tg) 動物などを用いることで、骨系細胞レベルでの骨基質配向性制御機構の解明が可能になる。KO や Tg 動物の作製は骨系細胞の機能や分化を制御し、配向性に及ぼす遺伝子

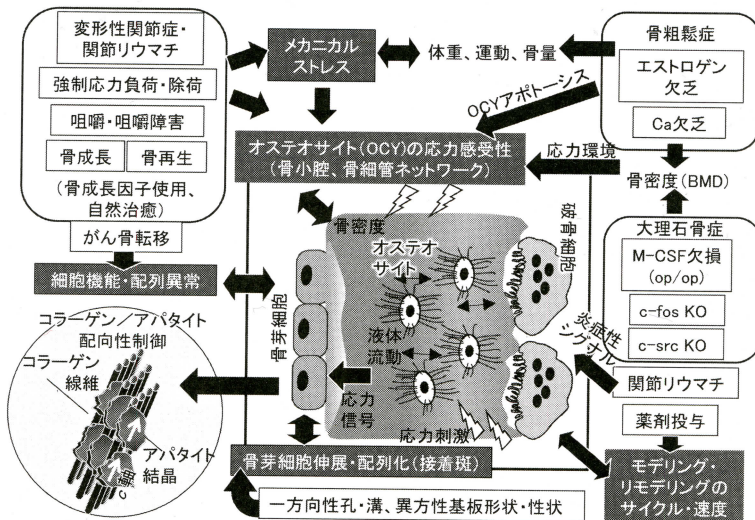


図3 骨基質中のアパタイト配向性に影響を及ぼす様々な因子
アパタイトを含む骨基質の配向性は一つの骨質指標として期待される。

や骨系細胞の役割を解明する糸口になる。中でも、M-CSF (Macrophage Colony-Stimulating Factor), OPG (Osteoprotegerin), c-fos, c-srcなどのOCの分化・機能化制御遺伝子を欠損した骨の解析から、骨基質配向性にとって骨吸収を担うOCの役割が極めて重要であることが示された^{14) 19)}。すなわち、骨芽細胞による骨配向化誘導には、活性化破骨細胞由来の特定のクラストカインの存在が必須となる。さらに、これまで破骨・骨芽細胞の分化や活性化の調整因子であると理解されていた遺伝子・分子が、実際には骨配向化制御にも深く関与することが明らかとなり、配向性を通じて遺伝子・分子の未知の機能性が理解されつつある。こうした生物学的機序の解明は、骨基質配向性の制御による骨健全化にもつながるものと期待される。

3. 細胞配列の生物学的機序に基づく配向化制御

骨アパタイトの秩序だった結晶学的配向性を作り出すには、個々の細胞配列パターンの

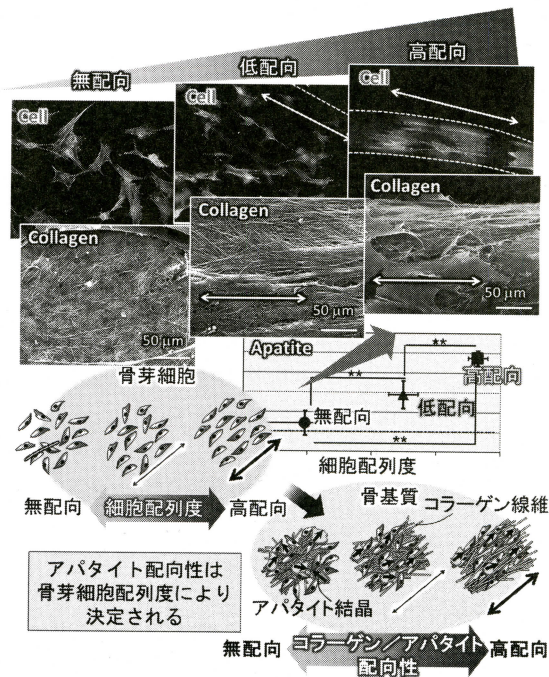


図 4 骨芽細胞配列列度に応じた配向化骨の形成
骨芽細胞配列の度合・方向の制御により、骨配向性を自由自在にコントロール可能である。(文献 22 より改変引用)

制御が必要不可欠である (図 4)²²⁾。骨芽細胞はコラーゲン産生とその後の石灰化プロセスを担い、その配列化度は基板材料の異方性の度合と相関し、さらに、骨配向性の強さは、骨芽細胞配列化度と相関する。すなわち、基板の異方性制御に基づき、任意の骨配向性を得ることが可能となる。材料表面への異方性構造の導入は、超高速パルスレーザ加工技術や金属積層造形法による形状制御²³⁾、さらには応力場の制御²⁴⁾によって可能であり、細胞配列化に基づく骨基質配向化方向や配向度の自在な制御を実現している。いずれの場合も材料の異方性表面形状が、骨芽細胞の優先配列化をもたらし、アパタイトが配向化した再生骨を短期間で形成可能であることが期待される。とりわけ、ナノスケールの一方向溝形状は、細胞接着の特異性を生み出し、従来の科学的常識を覆して細胞方向に垂直に骨基質を形成する。筆者らはこういった特異垂直化現象を見出すとともに、その主要制御因子が Tspan11 遺伝子であることを発見し、骨配向化の分子機序理解は飛躍的な進展をみせている²⁵⁾。正常骨ではこういった骨配向化の生物

システムによる骨機能化が統制される一方で、細胞の異常化は重篤な骨劣化をもたらし、その多くが骨の異方性微細構造破綻に起因することが近年明らかになりつつある。

がんは正常細胞の遺伝子変異により異常化した細胞集団がもたらす疾患であり、がん種や患者の遺伝的背景により治療法の最適化が必要不可欠である。骨はがん転移の主要な標的臓器である。造骨性がん転移骨では高骨密度を示すにもかかわらず非常に脆く、易骨折性の難治病態を示す。筆者らは、骨配向性の低下が、がん転移による骨折リスク上昇の重要因子であることを発見した²⁶⁾。すなわち、がん転移による骨の脆弱化が、従来の治療指標である BMD ではなく、骨配向性の低下によりもたらされることを意味している。正常骨では骨表面に一層に配列した骨芽細胞の規則的な作用により秩序だった骨形成がおこなわれた一方で、がん転移骨では、異常配列化した骨芽細胞による無方向性の骨形成を生じた。*in vitro* 配向化がん転移モデルの構築²⁷⁾により、がん—骨芽細胞間では動的相互作用を起点とした細胞間結合の形成が骨芽細胞配列化低下による骨機能不全を招くことが見出された (図 5)²⁸⁾。こうした発見は、がん転移骨における骨配向化異常のメカニズムの解明に基づき、骨配向性を基軸にしたがん転移の抑制、創薬や骨がん転移に対応したカスタム金属人工関節材料の開発につながることが期待される。

4. 超音波法による非侵襲骨基質配向性診断

骨基質配向性は BMD 以外に骨の力学特性や骨代謝回転と関わる重要な因子である。したがって、非侵襲的な方法によって臨床的に評価・解析ができれば整形外科領域、歯科領域などの骨関連分野での疾病の診断や薬剤・医療デバイスの有効性をより正確にモニタリングできる²⁹⁾。ここまで示してきた知見は、コラーゲンの優先走行方向と走行度の定量化

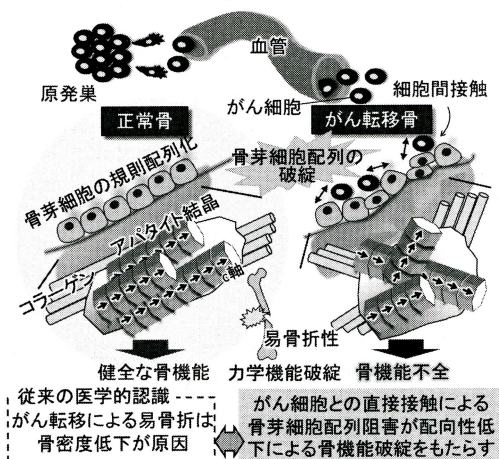


図 5 がん転移による骨配向化破綻機序

がん転移による骨の脆弱化は、骨芽細胞—がん細胞間での直接接触を起点とした配向化異常によりもたらされる。(文献 28 より改変引用)

案されている^{34) 35)}。こうした骨医療デバイスは骨系細胞の一方方向への誘導や *in vivo* 応力の人為的負荷など多彩な機能を搭載する必要があり、複雑形状化や骨類似機能化^{22) 23)}を目的に、金属積層造形法の活用が検討され、一部はすでに臨床応用がなされている。金属積層造形法は最先端の付加製造技術として注目されており、ASTM (F2792-12a) で規格化された粉末床溶融結合法 (Powder Bed Fusion) である電子ビーム積層造形 (EBM: Electron Beam Melting) 法や選択的レーザ溶融 (SLM: Selective Laser Melting) 法が骨医療デバイス開発に対し、主に活用されている。

金属積層造形法は、他の積層造形技術と同様に外部・内部形状を任意に造形可能であり、現状ではポア等の欠陥がわずかに残存する場合があるものの、力学特性は鋳造材と鍛造材の間に位置し、既に臨床応用されているものも多い。本邦においても、人工関節部品や頭蓋骨プレートなどへの適用が始まっている。金属積層造形法の PMDA 認可に関わるガイドライン作成は、平成 25 年度次世代医療機器・

再生医療等評価指標作成事業 (三次元積層造形技術を活用した整形外科用インプラントに関する評価指標) にて進められ、薬食機参発 0912 第 2 号 (平成 26 年 9 月 12 日) をはじめとした評価指標が発令されている。

いち早く上市された骨医療デバイスは、白蓋カップであり、京セラ(株)社製の SQRUM TT や帝人ナカシマメディカル(株)社製の GS カップが挙げられる。いずれも EBM 装置を用いたものであり、金属積層造形法により多孔質部と緻密部を一体造形できることを利用した骨医療デバイスである。一般的なセメントレスカップでは基材部分は機械加工し、外表面は粗化するために多孔質状金属を接合、もしくは金属粉末を溶射することが多いが、両手法ともに多孔質部では剥離や脱落などのリスクがある。

図 7 には、白蓋カップ (帝人ナカシマメディカル(株)社製) を示すが、多孔体と微小突起を特徴としており、ポーラス部は骨侵入を促進させるため 2 層の 3 次元連通構造とし、各ポーラス層は球面を正三角形の集合体で近似した

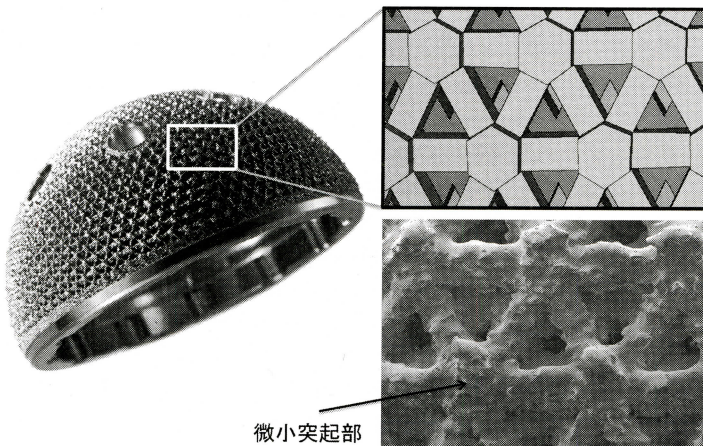


図 7 電子ビーム積層造形(EBM)法にて作製された白蓋カップ(GS カップ)
帝人ナカシマメディカル(株)より提供

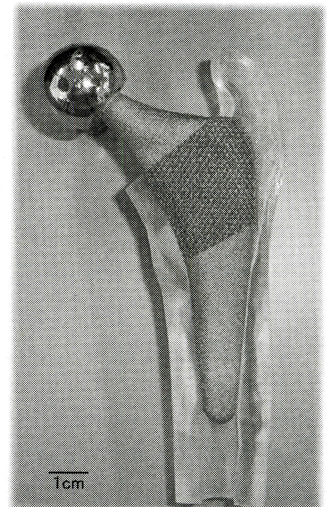


図 8 患者の CT 画像より得られた骨格形状にフィットさせ造形した人工股関節用カスタムシステムの例
(文献 36 より改変引用)

形状 (Geodesic Structure) としている。加えて、1 層目 (最表層部) に配列された正三角形の各頂点に微小突起を配置することで、初期固定性を高めたデザインとなっている。こうした多孔質部と緻密部の同時造形は界面一体造形のため、カップ基材部とポラス部に界面が存在しないことから安定性が高い。

さらに現状の骨・骨関節用インプラントは患者の平均骨格に基づいていることから、骨格との完全な一致が図られず、形状不一致による骨格形状への不適合がしばしば生じる。こうした不具合を解消するためには、例えば、図 8 に示すような患者の CT データに基づき 3 次元外形状をフィットさせた患者毎にカスタマイズされた骨・骨関節用インプラントの開発が進められている³⁶⁾。

おわりに

コラーゲン線維の走行とそれに関連するアパタイト結晶の配向性を骨質指標として用いることにより、パーソナル骨質医療が可能となる。これは、骨基質の配向性が骨部位によって大きく変化するだけでなく、個人差や疾患・投薬歴にも影響を受ける敏感な指標であることに由来する。すでに骨基質配向性を決めるいくつかのマーカー因子を見出し、さらに人工的な材料制御をも可能としていることから、近未来におけるサイバー空間とフィジカル空間の高度に融合した社会においては、個別化骨質医療に大きくシフトしていくものと期待される。すでに個々人の骨質のデータベース化を非侵襲に行う技術や制御法に関する基礎的知見は整いつつある。

文献

- 1) NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. J Am Med Assoc, 2001; 285: 785-95. DOI: 10.1001/jama.285.6.785.
- 2) Ito M, Ikeda K, Nishiguchi M, *et al.* : Multi-detector row CT imaging of vertebral microstructure for evaluation of fracture risk. J Bone Miner Res, 2005; 20: 1828-36. DOI: 10.1359/JBMR.050610.
- 3) Yamada S, Chiba K, Okazaki N, *et al.* : Correlation between vertebral bone microstructure and estimated strength in elderly women: An ex-vivo HR-pQCT study of cadaveric spine. Bone, 2019; 120: 459-64. DOI: 10.1016/j.bone.2018.12.005.
- 4) Saito M, Marumo K. : Collagen cross-links as a determinant of bone quality: A possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. Osteopor Int, 2010; 21: 195-214. DOI: 10.1007/s00198-009-1066-z.
- 5) Amizuka N, Karaplis AC, Henderson JE, *et al.* : Haploinsufficiency of parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) results in abnormal postnatal bone development. Develop Biol, 1996; 175: 166-76. DOI: 10.1006/dbio.1996.0104.
- 6) Komatsubara S, Mori S, Mashiba T, *et al.* : Long-term treatment of incadronate disodium accumulates microdamage but improves the trabecular bone microarchitecture in dog vertebra. J Bone Miner Res, 2003; 18: 512-20. DOI: 10.1359/jbmr.2003.18.3.512.
- 7) Donnelly E. : Methods for assessing bone quality: A review. Clin Orthop Rel Res, 2011; 469: 2128-38. DOI: 10.1007/s11999-010-1702-0.
- 8) 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, 2002; 31: 479-87. DOI: 10.1016/s8756-3282(02)00850-5.
- 9) 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, 2012; 51: 741-7. DOI: 10.1016/j.bone.2012.07.003.
- 10) Lee JW, Yun HS, Nakano T. : Induction of biological apatite orientation as a bone quality parameter in bone regeneration using hydroxyapatite/poly ϵ -caprolactone composite scaffolds. Tissue Eng C, 2016; 22: 856-63. DOI: 10.1089/ten.TEC.2016.0133.

- 11) Ishimoto T, Nakano T, Yamamoto M, *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*, 2013; 28: 1170-9. DOI: 10.1002/jbmr.1825.
- 12) Nakano T, Ishimoto T, Ikeo N, *et al.* : Advanced analysis and control of bone microstructure based on a materials scientific study including microbeam X-ray diffraction. *Progress in Advanced Structural and Functional Materials Design* (Ed. T. Kakeshita) , Springer, Tokyo, 2012. DOI: 10.1007/978-4-431-54064-9_13.
- 13) Lee JW, Kobayashi A, Nakano T. : Crystallographic orientation of the c-axis of biological apatite as a new index of the quality of subchondral bone in knee joint osteoarthritis. *J Bone Miner Metab*, 2017; 35: 308-14. DOI: 10.1007/s00774-016-0754-y.
- 14) Ishimoto T, Lee JW, Nakano T, *et al.* : Co-deteriorations of anisotropic extracellular matrix arrangement and intrinsic mechanical property in c-src deficient osteopetrotic mouse femur. *Bone*; 2017; 103: 216-23. DOI: 10.1016/j.bone.2017.06.023.
- 15) Sekita A, Matsugaki A, Nakano T. : Disruption of collagen/apatite alignment impairs bone mechanical function in osteoblastic metastasis induced by prostate cancer. *Bone*, 2017; 97: 83-93. DOI: 10.1016/j.bone.2017.01.004.
- 16) Ozasa R, Ishimoto T, Nakano T, *et al.* : Osteoporosis changes collagen/apatite orientation and Young's modulus in vertebral cortical bone of rat. *Calcif Tissue Int*, 2019; 104: 449-60. DOI: 10.1007/s00223-018-0508-z.
- 17) Shiraishi A, Miyabe S, Nakano T, *et al.* : The combination therapy with alfacalcidol and risedronate improves the mechanical property in lumbar spine by affecting the material properties in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *BMC Musculoskelet Disord*, 2009; 10: paper #66. DOI: 10.1186/1471-2474-10-66.
- 18) Landis WJ. : The strength of a calcified tissue depends in part on the molecular structure and organization of its constituent mineral crystals in their organic matrix. *Bone*, 1995; 16: 533-44. DOI: 10.1016/8756-3282 (95) 00076-p.
- 19) Lee JW, Nakano T, Toyosawa S, *et al.* : Areal distribution of preferential alignment of biological apatite (BAP) crystallite on cross-section of center of femoral diaphysis in osteopetrotic (op/op) mouse. *Mater Trans*, 2008; 48: 337-42. DOI: 10.2320/jinstmet.72.85.
- 20) Moriishi T, Ozasa R, Nakano T, *et al.* : Osteocalcin is necessary for the alignment of apatite crystallites, but not glucose metabolism, testosterone synthesis, or muscle mass, *PLOS Genet*, 2020; 16(5): e1008586. DOI: 10.1371/journal.pgen.1008586.
- 21) Hirose K, Ishimoto T, Toyosawa S, *et al.* : Overexpression of Fam20C in osteoblast *in vivo* leads to increased cortical bone formation and osteoclastic bone resorption. *Bone*, 2020; 138: 115414. DOI: 10.1016/j.bone.2020.115414.
- 22) Matsugaki A, Isobe Y, Saku T, Nakano T. : 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*, 2015; 103: 489-499. DOI:10.1002/jbm.a.35189
- 23) Matsugaki A, Aramoto G, Nakano T. : Abnormal arrangement of a collagen/apatite extracellular matrix orthogonal to osteoblast alignment is constructed by a nanoscale periodic surface structure. *Biomaterials*, 2015; 37: 134-43. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.10.025.
- 24) Matsugaki A, Fujiwara N, Nakano T. : Continuous cyclic stretch induces osteoblast alignment and formation of anisotropic collagen fiber matrix, *Acta Biomaterialia*, 2013; 9:7227-7235. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.03.015.24.
- 25) Nakanishi Y, Matsugaki A, Nakano T. : Unique arrangement of bone matrix orthogonal to osteoblast alignment controlled by Tspan11-mediated focal adhesion assembly. *Biomaterials*, 2019; 209: 103-10. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.04.016.
- 26) Sekita A, Matsugaki A, Ishimoto T, Nakano T. : Synchronous disruption of anisotropic arrangement of the osteocyte network and collagen/apatite in melanoma bone metastasis, *Journal of Structural Biology*, 2016; 197: 260-270. DOI: 10.1016/

j.jsb.2016.12.003

- 27) Kimura Y, Matsugaki A, Sekita A, Nakano T. : Alteration of osteoblast arrangement via direct attack by cancer cells: New insights into bone metastasis, Scientific Reports, 2017; 7:44824. DOI: 10.1038/srep44824
- 28) Matsugaki A, Harada T, Kimura Y, Sekita A, Nakano T. : Dynamic collision behavior between osteoblasts and tumor cells regulates the disordered arrangement of collagen fiber/apatite crystals in metastasized bone, International Journal of Molecular Sciences, 2018; 19: 3474. DOI:10.3390/ijms19113474.
- 29) Suetoshi R, Cretin D, Nakano T. : Analysis of the change in bone quality in the bone surrounding the femoral implant after the introduction of human artificial hip joint using ultrasound. Jpn J Clin Biomech, 2013; 34: 123-8.
- 30) Ishimoto T, Suetoshi R, Nakano T, *et al.* : Quantitative ultrasound (QUS) axial transmission method reflects anisotropy in micro-arrangement of apatite crystallites in human long bones: A study with 3-MHz-frequency ultrasound. Bone, 2019; 127: 82-90. DOI: 10.1016/j.bone.2019.05.034.
- 31) Minonzio JG, Bochud N, Vallet Q, *et al.* : Bone cortical thickness and porosity assessment using ultrasound guided waves: an *ex vivo* validation study. Bone, 2018; 116: 111-9. DOI: 10.1016/j.bone.2018.07.018.
- 32) Kashii M, Hashimoto J, Nakano T, *et al.* : Alendronate treatment promotes bone formation with a less anisotropic microstructure during intramembranous ossification in rats. J Bone Miner Metab, 2008; 26: 24-33. DOI: 10.1007/s00774-007-0782-8.
- 33) 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2015 年版, 2015.
- 34) 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, 2013; 52: 659-67. DOI: 10.1016/j.bone.2012.11.005.
- 35) Kuroshima S, Nakano T, Ishimoto T, *et al.* : Optimally oriented grooves on dental implants improves bone quality around implants under repetitive mechanical loading. Acta Biomater, 2017; 48: 433-44. DOI: 10.1016/j.actbio.2016.11.021. 29.
- 36) Nakano T, Ishimoto T. : Powder-based additive manufacturing for development of tailor-made implants for orthopedic applications. KONA Powder and Particle Journal, 2015; 32: 75-84. DOI: 10.14356/kona.2015015.

謝辞

本研究は、基盤研究(S)(JP25220912, JP18H05254), 基盤研究(A)(JP19H00827, JP20H00308), 挑戦的研究(萌芽)(20K21087)をはじめとする研究費支援により実施された。

※本稿は 2020 年 9 月号に掲載しました論文に加筆修正を加え掲載させていただきました。

