

Title	Construction of bone-mimetic anisotropic microstructure by directional regulation of osteoblasts
Author(s)	Matsugaki, Aira
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/26255
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

〔 題 名 〕

Construction of bone-mimetic anisotropic microstructure by directional regulation of osteoblasts

(骨芽細胞配列制御による骨類似異方性組織の構築)

学位申請者 松垣 あいら

本研究では骨芽細胞の周囲環境を利用した細胞配列制御により、骨類似の異方性組織材料の制御・構築を目指すと同時に、生体内における骨配向化機構の生物学的制御機序解明を目的とした。本論文は以下の8章により構成される。

第1章では、骨組織の異方性微細構造に影響を与える生体内外の環境因子に着目し、細胞形態の異方性による骨配向化制御の可能性について、細胞生物学的知見と併せて記述した。

第2章では、材料表面の形状的な異方性環境として、チタン単結晶において転位運動（塑性変形）により導入された表面すべり線を利用することで骨芽細胞配列化を達成した。原子レベルでの基板の形状制御が、材料―細胞相互作用を媒介する接着斑のすべり線間への局在化を介して骨芽細胞の異方的な配列を制御可能とすることを明らかとした。

第3章では、レーザー照射により自己組織的に形成される波長オーダーのナノスケール周期構造を利用した細胞・骨基質配向化機構解明を試みた。ナノ周期構造に沿って骨芽細胞は配列化し、形成された骨基質材料（コラーゲン/アパタイト）は骨芽細胞配列とは直交する方向に配向化した。配列化骨芽細胞は、ナノ周期構造に平行方向に長く伸長した特徴的な接着斑構造を形成したことから、基質タンパクの接着・合成や分解の場である接着斑における分子間相互作用や異方的な酵素活性を介した骨基質の配向性制御機構が存在する可能性が示唆された。

第4章では、周囲の応力・ひずみ環境に対する骨芽細胞応答を利用した骨基質配向化機構について検討した。伸展刺激負荷は骨芽細胞を最小ひずみ方向に配列させ、細胞の伸長方向に沿って産生コラーゲンも配列した。すなわち、最小ひずみ方向へのストレスファイバーの再構築により細胞の伸長方向が決定され、続いて産生コラーゲンの配向化が達成されたものと考えられる。

第5章では、コラーゲン分子がもつ化学的異方性に着目し、基板コラーゲンの分子配列を制御することによる細胞配列化・基質異方性制御を目指した。骨芽細胞は基板の異方性レベルに応じた配列度合いを示し、産生コラーゲンも細胞伸長方向へ線維を形成した。さらに興味深いことに、石灰化により形成されたアパタイト配向性は、基板の異方性レベル、すなわち骨芽細胞の配列度合いに対応して変化することから、コラーゲン/アパタイト基質の異方性は骨芽細胞の配列により制御可能であることが明らかとなった。

第6章では、細胞形態を決定する骨格タンパクであるアクチンに着目し、骨芽細胞におけるアクチン重合状態が形成骨基質の異方性に与える影響について分子レベルでのメカニズム解明を目指した。アクチンの動的な重合・脱重合反応は細胞形態のみならず細胞間接着分子の挙動や下流遺伝子の発現状態を制御し、骨配向性を制御する分子メカニズムの一端が明らかとなった。

第7章では、*in vivo*での骨再生における基板コラーゲン分子の異方性がアパタイト配向化に及ぼす影響について検討した。再生骨配向性は異方性コラーゲン基板からの距離依存的に変化し、細胞間相互作用を介した情報伝達や細胞形態によるアパタイト配向性制御機構の存在が示唆された。

第8章では本論文を総括した。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (松 垣 あいら)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 中野 貴由
	副 査 教授 藤本 慎司
	副 査 教授 荒木 秀樹

論文審査の結果の要旨

本論文は異方性構造材料としての骨組織に着目し、生体内における骨基質配向化システムを利用することで、細胞形態の配列化によりアパタイト/コラーゲン異方性複合材料としての骨基質の構築・制御を行っている。骨芽細胞周囲の物理的・化学的環境を制御することで、細胞配列、さらには骨芽細胞が形成する骨基質の配向性を制御可能であることを示し、細胞骨格タンパクを介した骨基質配向化機構の一端を明らかにしている。

第1章は序論であり、骨組織が有する異方性微細構造について、材料工学的・生物学的視点から述べている。骨の力学機能発現にとって骨密度以上に重要である異方性骨微細構造について、骨系細胞の性質・機能に着目しつつ、細胞形態と生体組織との相互作用について明確に説明している。

第2章では、チタン単結晶の塑性変形によって導入される表面すべり線により、骨芽細胞配列化制御が可能であることを示している。アクチンストレスファイバーがすべり線方向へと伸長し、すべり線間に接着斑局在化が進むことを示し、基板表面の形状制御が、骨芽細胞の異方的な配列化を制御可能であることを明らかにしている。

第3章では、基板表面にナノスケールの周期構造を導入することで、溝方向に沿った骨芽細胞配列化、骨基質配向化制御が可能であることを見出している。さらに骨基質配向化方向は細胞伸展方向に対して直交しており、細胞と基質の相互作用の場である接着斑が、分子レベルでの基質産生の方向性を制御する可能性について示している。

第4章では、細胞周囲の応力・ひずみ環境の制御により、骨芽細胞および骨基質の最小ひずみ方向への配向化制御が可能であることを明らかにしている。

第5章では、コラーゲン分子と骨芽細胞との相互作用に着目し、基板コラーゲン線維の異方性レベルを変化させることで、細胞配列制御、さらには産生される骨基質の異方性を制御可能であることを示している。形成された骨基質のアパタイト結晶配向性が、骨芽細胞配列度合いに相関して変化することを見出し、細胞形態と骨基質異方性との相関関係について定量的に解明している。

第6章では、細胞形態決定・維持に機能するアクチン分子に着目し、その重合・脱重合過程と形成される骨基質での異方性構造の関係について明らかにすることで、分子レベルでの骨基質配向化機構解明の可能性を検討している。

第7章では、異方性コラーゲン基板を骨再生モデルに適用することで、生体内においても骨芽細胞伸展方向の制御を通じて、配向化骨の形成が可能であることを明らかにし、その有効性を実証している。

第8章では、本論文により得られた成果をまとめ、細胞-材料間相互作用を利用した骨芽細胞配列制御による異方性骨類似組織構築への有効な手法と制御指針について総括している。

以上のように、本論文は材料工学的立場から骨異方性基質の構築・制御について新規手法と概念を提唱するものであり、材料工学の発展に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。