〔総 合 論 文〕

医用材料による細胞制御に基づく骨配向化誘導

松垣 あいら^{*1}・中野 貴由^{*1}

(受付 2017 年 10 月 4 日・審査終了 2017 年 12 月 4 日)

(早期公開 2018 年 1 月 16 日・DOI:10.1295/koron.2017-0077)

要 旨 生物の形態は自発的に秩序や対称性を獲得し、自己組織化により生体本来の機能発現を果たす。なかでも有機・無機複合材料として個体レベルで力学機能を発揮する骨は、マルチスケールで緻密に制御された、極めて異方性の強い微細構造により構成される。骨の無機成分であり、六方晶系の結晶構造を有するアパタイト結晶は、生物学的な支配下でその集合組織を形成する。骨系細胞は有機的連携に基づきアパタイト結晶配向性をコントロールするが、とりわけ骨芽細胞による骨形成過程において、その細胞形態、極性や細胞間相互作用の異方性が骨微細構造を決定する。一方で、疾患や損傷により失われたアパタイト結晶配向性の回復には長期間を要し、人為的な制御に基づくアパタイト結晶配向化誘導が骨の健全化には必要不可欠である。本報では、高分子材料や金属材料を用いた人為的な骨配向化誘導のための骨芽細胞制御について概説するとともに、疾患骨を例に、近年筆者らのグループで明らかにしつつある、骨配向化の生物学的制御メカニズムの一端について紹介する。

1 骨機能を規定するアパタイト結晶配向性

骨はさまざまなスケールレベルで緻密に制御された階層化構造を有し、骨機能はマクロレベルでみた骨形状、骨密度のみならず、マイクロ、ナノオーダーでの骨微細構造により支配される^{1),2)}。とりわけ、アパタイト結晶とタイプIコラーゲンの配向化構造 (Figure 1) は、骨の力学的機能を決定づけ、材料学的視点からの骨質指標と言える^{3),4)}。とくにアパタイト結晶は数十～数百ナノメートルオーダーサイズのイオン結晶であり、六方晶系の極めて異方性の強い結晶構造を有することから、骨の機能的特徴はその結晶学的方位関係に強く依存する。骨組織の評価には、現状ではレントゲンや DXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry), CT (Computed Tomography) などによる骨形態、骨密度 (BMD: Bone Mineral Density) を基準とした解析、すなわち、骨による軟 X 線吸収解析に基づく指標が主として用いられている。一方

Figure 1. (Color online) Schematic presentation of hierarchical structure of bone ranging from the atomic to organ level.

でこうした手法では、上述のアパタイト結晶の結晶学的異方性に関する情報を得ることはできず、結晶配向性の解析のためには、短波長の X 線の回折現象を用いることが有効である。とくに、微小領域 X 線回折 (microbeam XRD) 法はマイクロメートルスケールの微小部での回折情報の取得を可能とし、骨における部位特異的なアパタイト結晶の配向性の定量的評価に極めて有効である。本手法では、入射 X 線をコリメーターを用いて 10～100

^{*1} 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 吹田市山田丘 2-1)

$\mu\text{m}\phi$ 程度まで絞ることにより、骨微小領域での回折情報を得ることを特徴とする。

皮質骨は部位や種類に応じて異なる形態を示し、応力分布もさまざまである。Figure 2 には微小領域 X 線回折法により解析した成熟皮質骨の代表的な三方位での配向性分布を示す。アパタイト結晶配向性解析には、六方晶系のアパタイト結晶の回折ピークのうち、(002) と (310)

Figure 2. (Color online) Typical relative intensity ratio of (002)/(310) with different directions in the rabbit ulna (long bone), rabbit skull (flat bone), and monkey mandible. The intensity ratio corresponds to preferential alignment of the *c*-axis in apatite crystallites (Reproduced from Ref. 5).

の二つの回折ピークを用いた。(002)面の法線方向は、アパタイト結晶の*c*軸と一致し、(310)面は(002)面と垂直であるため、これらの回折強度比は、アパタイト結晶の*c*軸配向性を解析するのに適している。回折強度比は、無配向時には約2を示し、それより高い場合が優先配向性を示すことを意味している。

正常な成熟皮質骨ではほぼ等しい骨密度を示すにもかかわらず、骨配向性は骨の種類や部位に応じて異なる優先配向性を示す⁵⁾。尺骨、下顎骨、腰椎骨では、それぞれ骨長手方向、近遠心方向、頭尾軸方向に沿って優先的な*c*軸配向性を示す。一方、膜性骨化により扁平骨を形成する頭蓋骨では、骨面内に沿った二次元配向性を示す。さらに、下顎骨における歯冠直下では近遠心方向よりもむしろ咀嚼方向に局所的な優先配向性を示す。こうした部位に応じた特徴的な骨配向性は、*in vivo* 応力分布と深く関連し、とくに強い*c*軸配向性を示す方位は、最大主応力方位と一致する。

2 再生骨・疾患骨におけるアパタイト結晶配向性と力学機能との相関性

アパタイト結晶配向性は、正常骨のみならず、骨の再生度合や骨疾患の有無、進行状態の評価にも威力を発揮する^{6)~8)}。なぜなら、多くの場合、再生骨や疾患骨では X 線吸収解析では検出不可能な配向化構造の異常が生じており、それが骨の力学的機能の不健全性に直結するためである。

Figure 3 には、再生骨評価の例として、ウサギ尺骨に自然治癒不可能な 20 mm 巨大欠損を導入し、BMP2 (Bone Morphogenetic Protein 2) 徐放による骨再生を図った場合の骨形態と骨密度、配向性の回復過程を示す。12 週間には欠損部は再生骨で充填され、正常骨類似の皮質

Figure 3. (Color online) (Left) Soft X-ray photographs of rabbit ulna defects regenerated for 2, 4, 6, 12, and 24 weeks with controlled release of rBMP-2. Scale bar, 10 mm. (Right) Recovery of local BMD (Bone Mineral Density) and apatite *c*-axis alignment in the regenerated ulna (Reproduced from Ref. 9).

Figure 4. (Color online) Correlations between Young's modulus and (A) local BMD and (B) Apatite *c*-axis orientation at 4, 6, 12, and 24 weeks. Straight lines represent significant correlations between the parameters (Reproduced from Ref. 9).

骨様コントラストがレントゲン画像上で認められ、見かけ上の骨修復が完了する。同時に、再生部の骨密度も正常値にまで回復する。しかしながら、骨密度の回復速度とアパタイト結晶配向性の回復速度は必ずしも一致せず、この場合、下に凸の変化を示す。すなわち、配向性の回復が骨密度の回復に対して遅延する⁹⁾。同様の配向化の遅延は、プラスにチャージしたbFGF (basic Fibroblast Growth Factor) を徐放した場合、さらには自然治癒においても生じる¹⁰⁾。

こうしたアパタイト結晶配向性回復の遅れは、骨の力学機能、とりわけ、材質特性の一つとしてのヤング率の正常化の遅延につながる。Figure 4は、ナノインデントーション法にて計測したヤング率に対する、骨密度、配向性の相関関係を示す。ヤング率は、再生初期の4週では骨密度と有意に相関するものの、それ以降では、配向性と相関することから、再生期間のほとんど、とりわけ後半では、配向性がヤング率の変化を強く支配する。重回帰分析によると、本モデルにおいて、ヤング率に対する配向性、骨密度の寄与度合はおおよそ7:3であった。こうした配向性の力学機能に対する優位な寄与は、ヤング率以外の材質パラメータ (最大応力、靱性) に対して、さらには、正常骨、疾患骨においても見いだされている。

たとえば、破骨細胞欠損により大理石骨症を呈するマウス的大腿骨は、正常マウスよりも骨量が高いにもかかわらず低回折強度比を示し^{11),12)}、疾患骨における骨力学機能破綻が、骨密度以外の因子により支配されることを意味する。筆者らはこの要因として、骨軸に沿ったアパタイト結晶*c*軸配向性の著しい低下が骨力学機能破綻を招くことを見いだしており^{13)~15)}、細胞間相互作用に基づく骨配向性制御機構の一端が明らかになりつつあ

る。すなわち、骨代謝を制御する骨芽細胞・破骨細胞やオステオサイトによる細胞間での生理活性物質を介したシグナル伝達が骨配向化に極めて重要な役割を果たすことを見いだしている。

以上のように、アパタイト結晶の*c*軸配向性は、骨力学機能に直結する極めて重要な骨質指標の一つであり、骨量のみならず骨質の健全化を目指した医療用デバイスの開発には、骨部位に応じた異方性を再現し、機能的な骨組織再建を可能とする材料創製が必須となる。すなわち、真の生体組織再建のためには組織固有の配向化微細構造を材料学的なアプローチにより制御することが必須である。

3 高分子材料による細胞配列・骨配向化制御

コラーゲンは医用高分子材料として長い歴史を有し、骨をはじめとする生体組織・臓器を構成する多機能タンパク質である。天然コラーゲン分子は特徴的なアミノ酸の繰返し配列に基づく規則正しい線維構造を形成し、三重らせん構造上に特定のアミノ酸配列を提示することで特異的に他のタンパク質や細胞と相互作用する。筆者らは生体骨類似の配向化コラーゲン基板を作製することで、基板コラーゲン分子の配列度合いに応じた定量的な細胞配列化制御が可能となり、形成する骨基質 (コラーゲン/アパタイト) の細胞伸展方向への制御を可能とした (Figure 5)。興味深いことに、細胞配列化方向へ産生コラーゲン基質が形成され、コラーゲンに沿ったアパタイト結晶配向化が見いだされた。アパタイト結晶*c*軸配向性は、骨芽細胞の配列度合いに応じて変化を示し、細胞配列化を定量的に制御することで、骨類似の異方性骨基質構造を構築可能であることが明らかになった (Figure 6)¹⁶⁾。すなわち、アパタイト結晶配向化制御には、人工的な

Figure 5. (Color online) Schematic illustration of construction of anisotropic bone matrix by using oriented collagen substrate (Reproduced from Ref. 18).

Figure 6. (Color online) SEM images of collagen matrix secreted by the osteoblasts cultured on (A) the weakly oriented collagen substrate and (B) the strongly oriented collagen substrate. (C) Correlation between cell alignment and apatite orientation. Scale bar, 5 μ m (Reproduced from Ref. 16).

骨芽細胞配列化に基づく生体内での自己組織化現象の利用が重要であり、骨基質配向化は細胞配列に従ったコラーゲン基質の配向化とコラーゲンホールゾーンにおけるアパタイト結晶の核生成、コラーゲン方向に沿ったアパタイト結晶のエピタキシャル成長に伴う石灰化の進行により形成されると考えられる¹⁷⁾。

配向化コラーゲン基板を用いた組織再生は再生医療分野での応用も期待される。筆者らは配向化コラーゲンを足場とすることで、ヒトiPS細胞から配向化骨基質誘導が可能であることを見だしている¹⁸⁾。すなわち配向化コラーゲンを用いることで、患者自身の細胞から生体外において配向化人工骨を構築し、自発的には回復困難な骨微細構造の再建をも実現可能にすると見込まれる。骨再生において患者由来の体細胞から骨配向性を自由自在に制御可能であることを意味し、骨再生医療におけるブレークスルーが期待される。とくに、基板コラーゲンの配向性を制御することで、生活習慣や部位に応じて異なる骨配向性を患者別にコントロール可能であり、次世代の人工骨や骨代替材料創製へもつながることが大いに期待される。

4 金属材料による細胞配列・骨配向化制御

高齢者人口の増加に伴い、変形性関節症や骨粗鬆症などの運動器疾患治療のためのデバイス研究・開発の必要

性はますます高まっており、人工関節、骨折固定器具、脊椎固定器具などが適用される。これら運動器代替のためのデバイスは過酷な力学環境下においても長期間にわたる安定的な使用が求められ、金属材料は高い力学的信頼性から多くの医療用デバイスに使用される。とくに大荷重がかかる部位の運動・骨格機能再建において金属材料の使用は必須であり、チタン・チタン合金やコバルトクロム合金がインプラント材料として広く用いられている¹⁹⁾。

金属材料の変形は、除荷によりもとの形状へと戻る「弾性変形」と、永久的な変形である「塑性変形」の二つに分類することができ、加工のしやすさと同時に、血管などの拡張が必要な部位においても威力を発揮する。チタンの塑性変形により現れる独特の表面段差は他の手法では実現不可能な特徴的な形状であり、分子・細胞レベルでの生体応答をナノスケールで制御可能な極めて有効な手法である。筆者らはこれまでに、チタン単結晶の塑性変形により導入されるすべり変形や双晶変形に着目し、すべり線や双晶面ナノトレース構造により骨芽細胞配列化・骨基質配向化が導かれることを明らかにしてきた (Figure 7)²⁰⁾。純チタンは柱面すべり系の活性化により、圧縮変形後に特徴的な鋭角の段差を形成する。1%~10%までの圧縮ひずみ導入により、幅約10 μ m~20 μ m、高さ約200 nm~500 nmに表面形状を制御可能で

Figure 7. (Color online) Control of osteoblast arrangement by slip traces. (A) A diagram representing the plastic deformation process. (B) Schematic illustration of the stepped geometry on the surface introduced by the slip trace. The cell alignment along slip traces with compressive plastic strain of (C) 0%, (D) 3%, (E) 10%. Scale bar, 50 μm . (F) Fluorescence image of osteoblast aligned along slip traces. Scale bar, 20 μm (Reproduced from Ref. 20).

あった。表面の段差形状により細胞配列化を制御可能であり、アクチン線維のすべり線方向への伸展、すべり線間への接着斑の局在による骨芽細胞配列化により、転位運動に基づく表面段差を利用した分子レベルでの細胞配列化制御を実現した。金属単結晶は結晶方位に依存して異なる物性を示すことから、単結晶インプラントは骨異方性発現に極めて有効である^{21),22)}のみならず、多結晶を用いることであらゆる方位への細胞接着挙動制御をも達成可能である²³⁾。すなわち、多結晶体を構成する個々の結晶子の変形挙動に由来する起伏に応じて細胞伸展を制御可能である。

一方、骨基質の配向化は骨芽細胞の配列方向に沿っ

て形成されるのみならず、興味深いことに、ナノオーダーの凹凸に対する骨芽細胞の応答は、異なる挙動を示すことが明らかになった。フェムト秒レーザーの干渉を利用して形成したLIPSS (レーザー誘起周期表面構造)を用いることで、金属材料(Ti-6Al-4V, Co-Cr-Mo)表面にナノメートルスケールの配向溝形状が付与できる(Figure 8A)。幅およそ500 nm、高さおよそ250 nmの周期構造が形成され、骨芽細胞は溝に沿って配列化する(Figure 8B)。配向溝の幅と高さは複合的に細胞配列化に作用し、フィロパディアサイズやストレスファイバーの屈曲限界に依存して、細胞種に応じた細胞配列化の閾値が存在すると考えられる。骨芽細胞配列の決定は、接

Control of bone anisotropy

Figure 8. (Color online) (A) Nanometer-scale periodic surface structure introduced by laser irradiation. (B) Osteoblast arrangement along the nanogrooves. Scale bar, 50 μm . (C) Immunofluorescent images of collagen matrix secreted by the osteoblasts. Scale bar, 100 μm . (D) TEM observations of the cross-section of the mineralized matrix produced by the osteoblasts on the Ti-6Al-4V alloys with nanogrooves. (E) Integrated intensity ratio of (002)/(211) oriented at 0 deg. and 90 deg. to the nanogrooves (Reproduced from Ref. 24).

Figure 9. (Color online) Schematic illustration of construction of oriented bone matrix depending on the substrate topography.

着斑を介した基板表面と骨芽細胞との相互作用に基づき、数 100 nm オーダーの凹凸に対して、骨芽細胞は溝方向に沿ってインテグリンの集積により巨大に伸張した接着斑を形成した。ここで、驚くべきことに、ナノ配向溝上で配列化した骨芽細胞は、細胞配列に直交する方向へコラーゲン基質形成を行うことが見いだされた (Figure 8C)。石灰化領域断面の透過型電子顕微鏡観察により、(002) 回折パターンが細胞伸張方向に直交して見いだされ (Figure 8D)、また微小領域 X 線回折法によるアパタイト配向性解析結果より、ナノ配向溝上で形成されたアパタイト結晶 *c* 軸は細胞配列に対して直交方向へ優先配向していた (Figure 8E)。すなわち、ナノ配向溝に沿って配列化した骨芽細胞が形成するコラーゲン/アパタイトは細胞配列方向に直交することを見いだした²⁴⁾。

今回の知見は、ナノ配向溝基板上では骨芽細胞は溝に平行に、一方で骨基質は、これまでの常識を覆し、骨芽細胞伸張方向に垂直に配列する。これには溝方向に発達した接着斑構造による細胞の接着安定化作用が関与する可能性が考えられ、細胞は基板表面形状スケールに応じて「直交性」「平行性」の相反する二つの配向化機構を選択していると予想される (Figure 9)。細胞配列に対する骨基質配向化方向の転換は、細胞骨格やオルガネラのサイズに関連し、ナノ構造に対して遺伝子レベルで緻密に制御されと考えられ、現在、分子メカニズム究明を進めている。このような「直交性」骨基質配向化は、これまでの科学的常識を覆すだけでなく、人工関節などの表面にナノ配向溝構造を与えることで、人工関節周囲に形成する新生骨組織の微細構造までを健全化できる可能性を示している。すなわち、骨部位に応じた異方性微

Figure 10. (Color online) (A) Micro-computed tomography (micro-CT) images of the PCa-bearing femur and the control femur diaphysis. Scale bar; 1 mm. (B) Decrease in the preferential alignment of biological apatite (BAp) in the PCa-bearing bone. (C) Birefringence analysis of collagen matrix of PCa-bearing femur. The arrows and the color indicate average orientation of the collagen fibrils in each pixel. Scale bar; 0.5 mm (Reproduced from Ref. 29).

細組織再建のためには、細胞配列化方向に対する「平行性」「直交性」配向化骨基質形成を複合的に考慮したマルチスケールでの材料表面形状設計が必須である。

5 疾患骨におけるアパタイト配向性制御機構 ～癌転移モデルを例に～

骨は基質中に多様な増殖因子を含み、リモデリングにより極めて肥沃な環境を形成することから、肺や肝臓と並んで高頻度で癌転移が起こる組織である^{25),26)}。癌転移骨は顕著な力学機能の低下を示し、病的骨折をひき起こす²⁷⁾。とくに、前立腺癌は高頻度で骨に転移し造骨型病巣を形成するが、造骨型転移を起こした骨組織では骨量増加を認めるにもかかわらず骨力学機能が顕著に低下し、患者の骨折リスク増大をとまなう²⁸⁾。これは、造骨型癌転移において骨力学機能が骨量・骨密度以外の因子に支配されることを強く示唆する。筆者らは造骨型転移骨における骨配向性の変化およびその骨力学機能に対する関与を明らかにすることを狙いとして、前立腺癌骨転移マウスモデルの大腿骨を用いてコラーゲン/アパタイトの配向性を解析するとともに、骨ヤング率をはじめとした材質特性を調査した (Figure 10A)。コラーゲン線維

Figure 11. (Color online) Immunocytochemical analysis of osteoblasts under direct coculture with cancer cells. Scale bar: 100 μm (Reproduced from Ref. 32).

Figure 12. (Color online) Controlling factors for bone tissue anisotropy based on apatite/collagen orientation.

配向性は、コラーゲン線維の正の複屈折材料としての特性を利用した定量的複屈折測定法により、アパタイト結晶の配向性は、微小領域X線回折法により解析した。この結果、造骨型転移骨においてコラーゲン/アパタイトの配向性が顕著に低下することが明らかになった (Figure 10B, 10C)。アパタイト結晶配向性および骨ヤング率の間には有意に正の相関が見られたことから、骨配向性が骨力学機能を強く支配することが示された²⁹⁾。すなわち、癌転移による骨の脆弱化が、従来の治療指標である骨密度ではなく、骨配向性の低下によりもたらされることを発見した。このとき、正常骨では骨表面に一層に配列した骨芽細胞および破骨細胞の規則的な作用により layer-by-layer での骨モデリングが行われた一方、造骨型転移骨では、骨内膜・外膜の両側で分化亢進し積層化した骨芽細胞による無方向性の骨形成が起こったことが明らかになった。骨芽細胞の配列状態は産生骨基質の配向性を直接的に決定することから、骨表面での骨芽細胞の配列不全が骨配向性低下の要因であることが示唆された。癌転移による骨配向性低下は溶骨性転移を誘発するメラノーマおよび乳癌においても同様に見いだされ、いずれにおいても細胞間相互作用に基づく異方性破綻機構の存在が示唆された^{30),31)}。

癌細胞はいかにして骨芽細胞配列破綻をもたらしたのか、*in vitro* 異方性転移モデルを構築し、そのダイナミクス解明にもアプローチしている。溶骨型転移を誘発す

る B16F10 (メラノーマ)、MDA-MB-231 (乳癌) および造骨型転移を誘発する MDA-PCa-2b (前立腺癌) と骨芽細胞の配列化共培養モデルは、転移骨において骨微細構造変化をもたらす細胞・分子レベルのメカニズム解明に極めて有効である。癌細胞由来の液性因子は、骨芽細胞の増殖・分化を制御した一方で、癌細胞-骨芽細胞間の直接的相互作用は、溶骨型・造骨型いずれの癌細胞においても骨芽細胞配列化を顕著に抑制した (Figure 11)。配列低下を示す骨芽細胞では、癌細胞との間に Cx43 陽性のギャップジャンクションを形成しており、細胞間での情報伝達を介した細胞骨格構築システムの破綻が示唆された³²⁾。以上より、癌細胞との直接接触による骨芽細胞の配列不全が骨配向性低下の要因のひとつであることが示された。現在、他の骨系細胞との相互作用を含めた分子機序解明に取り組んでおり、癌骨転移による骨微細構造変化の分子メカニズム解明による新たな創薬・癌治療への展開が期待される。

6 結 論

生体組織、臓器が発現する配向化微細構造の実現には、医用材料による積極的な組織誘導、ならびに生体内での自己組織化現象の利用が不可欠である。とくにコラーゲン/アパタイト異方性微細構造に基づく骨配向性は生体を取りまく力学環境などの外的因子や、遺伝子情報など内在性因子が複雑にからみ合い緻密に制御される

(Figure 12). とりわけ骨芽細胞配列は骨配向化を直接決定し、医用材料による骨芽細胞配列制御は真に機能的な組織構築に必須である。健全な臓器・組織の機能発現に向けた配向性制御、およびその分子レベルでの解明は医用材料研究の発展に不可欠であり、基礎・実用両面からの研究展開が期待される。

謝 辞 本報の研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金 基盤研究 S (A252209120)、若手研究 A (A17H049550) の支援により実施された。

文 献

- 1) W. J. Landis, *Bone*, **16**, 533 (1995).
- 2) R. B. Martin and D. L. Boardman, *J. Biomechanics*, **26**, 1047 (1993).
- 3) M. Liebi, M. Georgiadis, A. Menzel, P. Schneider, J. Kohlbrecher, O. Bunk, and M. Guizar-Sicairos, *Nature*, **527**, 349 (2015).
- 4) F. Schaff, M. Bech, P. Zaslansky, C. Jud, M. Liebi, M. Guizar-Sicairos, and F. Pfeiffer, *Nature*, **527**, 353 (2015).
- 5) T. Nakano, K. Kaibara, Y. Tabata, N. Nagata, S. Enomoto, E. Marukawa, and Y. Umakoshi, *Bone*, **31**, 479 (2002).
- 6) S. Miyabe, T. Ishimoto, and T. Nakano, *J. Phys.: Conference Series*, **165**, 012087 (2009).
- 7) A. Shiraishi, S. Miyabe, T. Nakano, Y. Umakoshi, M. Ito, and M. Mihara, *BMC Musculoskeletal Disorders*, **10**, 66 (2009).
- 8) M. Tanaka, A. Matsugaki, T. Ishimoto, and T. Nakano, *J. Bone Miner. Metab.*, **34**, 234 (2016).
- 9) T. Ishimoto, T. Nakano, Y. Umakoshi, M. Yamamoto, and Y. Tabata, *J. Bone Miner. Res.*, **28**, 1170 (2013).
- 10) T. Nakano, K. Kaibara, T. Ishimoto, Y. Tabata, and Y. Umakoshi, *Bone*, **51**, 741 (2012).
- 11) J. Tuukkanen, A. Koivukangas, T. Jämsä, K. Sundquist, C. A. MacKay, and S. C. Marks Jr., *J. Bone Miner. Res.*, **15**, 1905 (2000).
- 12) T. Jämsä, J.-Y. Rho, Z. Fan, C. A. MacKay, S. C. Marks Jr., and J. Tuukkanen, *J. Biomechanics*, **35**, 161 (2002).
- 13) J.-W. Lee, T. Nakano, S. Toyosawa, Y. Tabata, and Y. Umakoshi, *Mater. Trans.*, **48**, 337 (2007).
- 14) K. Sasaki, T. Nakano, J. D. Ferrara, J.-W. Lee, and T. Sasaki, *Mater. Trans.*, **49**, 2129 (2008).
- 15) T. Ishimoto, B. Sato, J.-W. Lee, and T. Nakano, *Bone*, **103**, 216 (2017).
- 16) A. Matsugaki, Y. Isobe, T. Saku, and T. Nakano, *J. Biomed. Mater. Res., Part A*, **103**, 489 (2015).
- 17) A. Matsugaki, N. Fujiwara, and T. Nakano, *Acta Biomater.*, **9**, 7227 (2013).
- 18) R. Ozasa, A. Matsugaki, Y. Isobe, T. Saku, Y. Hui-suk, and T. Nakano, *J. Biomed. Mater. Res., Part A*, **106**, 360 (2018).
- 19) M. Niinomi, *J. Mechanical Behav. Biomed. Mater.*, **1**, 30 (2008).
- 20) A. Matsugaki, G. Aramoto, and T. Nakano, *Biomater.*, **33**, 7327 (2012).
- 21) T. Nakano, B. Ogawa, Y. Koizumi, and Y. Umakoshi, *Acta Mater.*, **46**, 4311 (1998).
- 22) S.-H. Lee, M. Todai, M. Tane, K. Hagihara, H. Nakajima, and T. Nakano, *J. Mechanical Behav. Biomed. Mater.*, **14**, 48 (2012).
- 23) A. Matsugaki and T. Nakano, *Crystals*, **6**, 73 (2016).
- 24) A. Matsugaki, G. Aramoto, T. Ninomiya, H. Sawada, S. Hata, and T. Nakano, *Biomaterials*, **37**, 134 (2015).
- 25) R. E. Coleman, *Cancer Treat. Rev.*, **27**, 165 (2001).
- 26) G. R. Mundy, *Nat. Rev. Cancer*, **2**, 584 (2002).
- 27) N. K. Behnke, D. K. Baker, S. Xu, T. E. Niemeier, S. L. Watson, and B. A. Ponce, *Supportive Care Cancer*, **25**, 513 (2016).
- 28) F. Saad, A. Lipton, R. Cook, Y.-M. Chen, M. Smith, and R. Coleman, *Cancer*, **110**, 1860 (2007).
- 29) A. Sekita, A. Matsugaki, and T. Nakano, *Bone*, **97**, 83 (2017).
- 30) A. Sekita, A. Matsugaki, T. Ishimoto, and T. Nakano, *J. Struct. Biol.*, **197**, 260 (2016).
- 31) A. Sekita, A. Matsugaki, and T. Nakano, *Mater. Trans.*, **58**, 266 (2017).
- 32) Y. Kimura, A. Matsugaki, A. Sekita, and T. Nakano, *Sci. Rep.*, **7**, 44824 (2017).

[Comprehensive Papers]

Strategy for Construction of Anisotropic Bone Matrix by Using Biomedical Materials

Aira MATSUGAKI*¹ and Takayoshi NAKANO*¹

*¹Division of Materials and Manufacturing Science, Graduate School of Engineering, Osaka University (2-1 Yamada-oka, Suita 565-0871, Japan)

Ordered structures in constituent materials govern their functions, sometimes much more than their amount would suggest. The crystallographic texture of apatite with a hexagonal lattice structure dominates the mechanical properties of bone more than bone mass. However, obtaining an appropriate anisotropic microstructure during the bone regeneration process remains a big challenge. A powerful strategy for the control of structural development of newly formed bone is required in bone tissue engineering, in order to realize functional bone tissue regeneration. We developed essential strategies for control of bone matrix anisotropy by using biomedical materials involving polymeric, metallic and other related materials.

KEY WORDS Collagen / Apatite / Bone / Bone Quality / Anisotropic Microstructure / Biomaterials / Cell Arrangement /

(Received October 4, 2017; Accepted December 4, 2017; Advance Publication January 16, 2018) [*Kobunshi Ronbunshu*, **75**, 164—173 (2018)]

©2018, The Society of Polymer Science, Japan