

日本金属学会フロンティア研究助成は、教育・研究機関での金属及びその関連材料分野の学術研究及び技術研究の発展や若手研究者の育成や奨励を主な目的として2020年度に設立されました。第2回フロンティア研究助成受給テーマ10件の研究期間終了に伴い、その成果をまてりあで報告しております。63巻3号および4号でも報告しております。

「金属材料表面構造による細胞制御に基づく
生体骨機能化材料の創製」成果報告書

1. 研究期間：2021年10月～2023年9月(2年間)
2. 研究の概要

金属材料は無機物でありながら、その構造制御により、生体組織と有機的に相互作用することで生物機能をもコントロール可能な高機能材料である。代表者らは、構造材料としての生体骨の機能化を支配するのは「骨配向性(アパタイトの結晶集合組織)」であることを示し、骨配向化誘導のためには金属材料表面制御による骨芽細胞配列化制御が必須であることを見出してきた。とりわけ、チタン合金表面のナノ構造制御により、従来の科学的常識を根底から覆し、細胞方向に垂直に配向化した骨基質を形成する(「直交性骨配向化現象」)ことを発見し、生体材料学のトップジャーナルであるBiomaterials誌に発表している。本研究では、チタンによる骨の積極的な配向化誘導を目指し、ナノオーダー～マイクロオーダーまで、その表面構造の微細制御による骨配向化機序の理解に基づき、健全な再生骨誘導を可能とする新たなチタン骨代替材料の創製を目的とする。代表者らが世界に先駆けて発見した「直交性」および「平行性」骨配向化機構を解明することができれば、部位や種類に応じて様々な配向方向・配向度を示す骨の配向性を自由自在にコントロール可能となり、既存の骨医療では解決が困難であった骨疾患治療・骨医療デバイス開発に飛躍的進展をもたらすと期待される。

3. 研究実施の概要

本研究では、材料工学と細胞生物学の融合的アプローチに基づき、金属材料が生体組織の高機能化をもたらす仕組みを理解することで、骨機能化を誘導する新しい骨代替材料の創製を目指した。具体的には、以下の項目について実施し、金属材料表面形状のスケールに応じて選択的に発動する「平行性」「直交性」配向化に着目し、骨配向化を決定する金属材料表面構造の制御と、そのメカニズム解明に取り組んだ。

(i) チタン合金表面形状制御：超短パルスレーザーによる自己組織的な微細周期構造導入を駆使することで、細胞スケール

の空間分解能をもつナノ～マイクロオーダーの一方方向性表面構造を制御した。具体的にはTi-6Al-4V合金表面にフェムト秒レーザーの波長依存的にナノメートルスケールの微細周期構造を形成した(図1)。

(ii) (i)の金属表面構造による細胞・基質配向化解明：細胞体や接着斑との相互作用に着目し、溝形状に応じた細胞接着形態・伸展制御の機序解明に取り組んだ。周期構造に対して骨芽細胞は溝方向へと伸展・優先配列化した(図2)。興味深いことに、特定のナノサイズ配向溝に沿った配列化細胞は、細胞伸展に直交方向にコラーゲン基質を形成した。こういった特異な「直交性骨配向化」現象は、マイクロメートルスケールの一方方向性溝の場合にみられる細胞方向への骨基質配向化とはまったく異なり、ナノオーダーの溝形状への特異的応答現象として見出された。直交配向化のみられた溝幅およそ500 nmは、ストレスファイバーやフィロポディアなどの細胞骨格関連オルガネラの大きさに対応し、細胞サイズに相当するマイクロメートルスケールの表面形状との間に、材料表面の形状サイズに依存した骨基質配向化の選択的制御の閾値が存在することが示唆された。実際に、直交配向化を形成する骨芽細胞では、ナノ配向溝に沿って成熟した接着斑が発達しており、平行・垂直の選択的骨配向化現象は、細胞-材料界面の相互作用に基づき遺伝子レベルから制御されることが予想された。

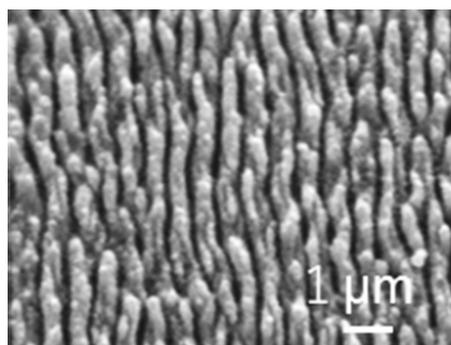


図1 超短パルスレーザーによるTi-6Al-4Vへの微細周期構造導入。

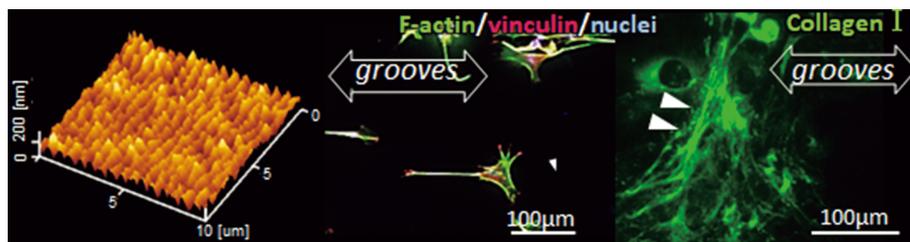


図2 ナノ配向溝構造上での直交性骨基質配向化。(オンラインカラー)

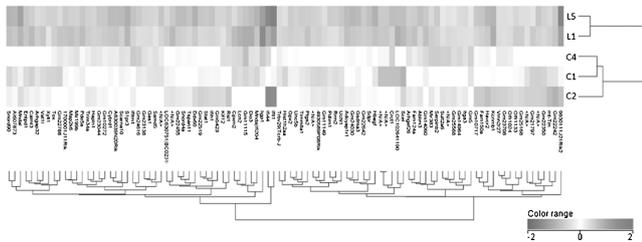


図3 ナノ配向導入による遺伝子発現変動。

(iii) 配向化を制御する細胞・遺伝子機序の同定：次世代シーケンシングを用いた網羅的な遺伝子発現解析により、チタン表面形状に対する細胞応答を遺伝子レベルから解明し、金属材料がもたらす遺伝子レベルでの生体反応解明に取り組んだ。細胞伸展に平行・垂直の骨基質配向化を決定する分子機序について、遺伝子スクリーニングにより材料⇔細胞間での分子授受を解析することで配向化機構の一端が明らかになった。配向性をもたない基板として rough 基板(表面粗さを保持)および鏡面基板、ナノ配向溝構造を有する nanogrooved 基板を作製し、材料表面での骨芽細胞の遺伝子発現について RNASeq 法を駆使することで、配向化により発現変動する遺伝子群を抽出した。これらは、インテグリンのクラスター化により接着斑構造・機能を制御し、接着斑成熟化を介して骨芽細胞—骨基質の直交配向化を制御する配向化機構が明らかになった(図3)。さらには材料を活用した遺伝子機序の人為的活性化に基づき、こうした骨配向化誘導のための材料工学的細胞制御方法論を見出し、骨配向化を積極的に促進し、初期から長期での固定を実現する骨バイオマテリアルの基本概念確立へとつながった。

今回の成果は、人工関節等の骨系医療デバイス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おり、遺伝子レベルから骨配向性を自由にコントロールできる可能性を示している。配向化骨誘導により半永久的に機能発現可能な次世代の骨医療デバイス確立につながるものと大いに期待される。



4. 成果の発表

1. 松垣あいら, 松本峻, 中野貴由:「骨異方性誘導のための免疫応答評価とその機序解明」, 日本金属学会2022年春期講演(第170回)大会, オンライン, 2022年3月16日
2. 松垣あいら, 田中健嗣, Gokcekaya Ozkan, 中野貴由:「骨機能化誘導のためのチタン表面構造による幹細胞制御」, 日本金属学会2022年秋期講演(第171回)大会, 福岡工業大学, 2022年9月21日
3. 松垣あいら, 田中健嗣, Gokcekaya Ozkan, 中野貴由:「チタン表面構造による幹細胞分化制御と骨基質配向化」, 日本金属学会2023年春期講演(第172回)大会, 東京大学, 2023年3月10日
4. Aira Matsugaki, Takayoshi Nakano, Review-Metal Additive Manufacturing of Titanium Alloys for Control of Hard Tissue Compatibility, Materials Transactions, 64 [1], (2023), 25-30. DOI: <https://doi.org/10.2320/matertrans.MT-MLA2022012>, 2023年1月号掲載
5. 本研究終了後の計画等
材料工学に生物学的観点を取り入れた本研究ならではのアプローチにより、金属材料/生体界面での分子機序理解とその人為的制御を可能とした。本成果は、生体機能化金属材料学とも言える新たな学術的展開の可能性を拓くものであり、基礎的観点からは細胞制御メカニズム解明に基づいた生体用金属材料の高機能化、応用的側面からは骨再建のためのデバイス設計へと深化させたい。さらに金属積層造形法等の最先端技法を用いることで金属/生体界面の3次元制御をも可能になると見込まれる。金属材料学的方法論を駆使することで、こうした界面現象の生物学的理解と併せて生体用金属材料研究を展開する計画である。
6. 研究代表者：松垣あいら(大阪大学大学院工学研究科・准教授)
7. 研究協力者：中野貴由(大阪大学大学院工学研究科・教授)