

【目的】 本研究の目的は、破骨細胞が溶かすべき「古い骨」の構造的・組成的な起源を、結晶成長学的見地な観点から解明するための分析・制御アプローチの開拓である。骨のリモデリングは、破骨細胞が酸や酵素を放出し、“古い”骨を溶かすことから開始される。その後、骨芽細胞は溶かされた領域に新しい骨を形成し、自ら産生した骨基質に埋まって骨細胞へと分化することで、骨リモデリングのサイクルが進行する。しかし、そもそも破骨細胞が溶かすべき「古い骨」とはどんな構造なのか、骨リモデリングのファーストステップの詳細が未だ謎に包まれている。そこで本研究では、破骨細胞が溶かす骨の組成・構造的起源を結晶工学的な観点から明らかにする手法論を開拓することを目指した。具体的には、酸溶液中での骨の組成や構造を、ラマン分光や原子間力顕微鏡 (AFM) などを用いて系統的に調べるための分析プロトコルを構築した。またこれまで研究代表者の吉川らは、高強度パルスレーザーの物理刺激 (熱・応力など) により分子間引力を制御することで、従来法では得られない特異な構造・形状・サイズの結晶を得る手法論の開発に成功してきた。本研究ではこの独自のレーザー結晶化制御技術も基盤とし、骨の組成や構造を空間手選択的に制御するための新しいレーザー技術の検証にも取り組んだ。

【方法】 マウス由来の頭頂骨および長管骨 (大腿骨、脛骨) を対象として、ラマン分光・AFM などによる骨の組成・構造の分析プロトコルの構築を行った。またそれを活用し、フェムト秒レーザー照射が骨の組成・構造に与える影響を評価し、骨の組成や構造を空間手選択的に制御するための新しいレーザー技術への応用性を検討した。

【結果】 本研究ではまず骨の主成分であるハイドロキシアパタイトとコラーゲンの組成・構造をラマン分光により評価する分析プロトコルを構築した。具体的には各ラマン散乱の様々なピークの位置、半値幅、面積比などを定量指標化し、骨の種類や場所、マウスの月齢・疾病などに対して骨の組成・構造がどのように変化するかを調べるための技術基盤を構築した。また本研究では、酸性溶液への暴露に対する骨の構造変化を AFM によりナノメートルスケールで評価する分析プロトコルを構築することにも成功した。これにより、骨を形成するコラーゲン繊維とハイドロキシアパタイトのナノ結晶の複合体が、ナノメートルスケールでどのように溶解するかに関する知見を得ることに成功した。さらに骨の組成・構造の空間選択的制御に関する成果として、フェムト秒レーザーを用いることで骨の酸溶解性を空間選択的に促進できることを見出した。今後本レーザー制御技術と多光子励起によるライブイメージングと技術とを組み合わせることで、酸溶解性の異なる領域を破骨細胞がどのように認識するのかを解明できることが期待される。以上から、今後骨リモデリングのメカニズム解明を進める上での重要な分析・制御の要素技術群を開発することに成功した。

骨リモデリング研究における新しい分析・制御アプローチ

