

歯科補綴学における骨質のパラダイムシフト

黒嶋伸一郎^{a,b}, 加来 賢^{c,d}, 石本卓也^e, 佐々木宗輝^a, 中野貴由^e, 澤瀬 隆^a

A paradigm shift for bone quality in prosthetic dentistry

Shinichiro Kuroshima, DDS, PhD^{a,b}, Masaru Kaku, DDS, PhD^{c,d}, Takuya Ishimoto, PhD^e,
Muneteru Sasaki, DDS, PhD^a, Takayoshi Nakano, PhD^e and Takashi Sawase, DDS, PhD^a

本論文は J Prosthodont Res に掲載された以下の論文を、日本語に翻訳し日補綴会誌に掲載するものである。
Kuroshima S, Kaku M, Ishimoto T, Sasaki M, Nakano T, Sawase T. A paradigm shift for bone quality in dentistry: A literature review. J Prosthodont Res 61: 353-362, 2017. doi: 10.1016/j.jpor.2017.05.006.

抄 録

目的：本研究の目的は、米国国立衛生研究所により提唱された「骨質」について最新の知見に基づいて解説し、骨質に影響を与える細胞や分子動態を解説することにある。

研究の選択：本論文は、コラーゲン線維、生体アパタイト（Biological Apatite：BAp）結晶、ならびに骨芽細胞や骨細胞を含む骨関連細胞に焦点を当てた文献レビューである。

結果：歯科学における「骨質」という専門用語は、レントゲンのおよび感覚的な評価に基づいて、長い間、骨密度とほぼ同義と考えられてきた。ところが2000年、米国国立衛生研究所は、骨質は骨密度とは完全に独立した全く新しい概念で、「骨構造」、「骨代謝回転」、「石灰化」ならびに「損傷の蓄積」などから構成されると定義した。そしてわれわれは近年、BAp、コラーゲン線維、ならびに骨芽細胞や骨細胞といった骨関連細胞が、ヒップインプラント（股関節インプラント）やデンタルインプラント周囲における新しい概念の「骨質」に重要な役割を果たすことを明らかにした。

結論：新規概念の「骨質」は骨の力学的機能を理解するために極めて重要である。BAp、コラーゲン線維、ならびに骨細胞は骨質に影響を与える主要な因子であり、さらに荷重は骨質を動的に適応変化させる。新規概念の「骨質」を理解することは歯科学において必要不可欠である。

キーワード

骨質, コラーゲン線維, 生体アパタイト結晶, 骨関連細胞, 歯科補綴学

ABSTRACT

Purpose: The aim of this review article was to present the current concept of “bone quality” which was stated to be important parameters for bone diagnosis other than BMD by the National Institute of Health (NIH), based on collagen fibers, biological apatite, and bone cells.

Results: The term “bone quality” has been considered to be synonymous with bone mineral density (BMD) based on radiographic and sensible evaluations in prosthetic dentistry. However, the concept of bone quality, which is comprised from bone architecture, bone turnover, bone mineralization, and micro-damage accumulation, was proposed by the NIH in 2000. The current concept of bone quality is completely independent of BMD. Moreover, our investigations have shown that collagen fibers, biological apatite (BAp), and bone cells such play important roles in regulating the current concept of bone quality in bone around hip and dental implants.

Conclusions: The current concept of bone quality plays crucial roles in understanding bone mechanical functions. Collagen fibers, BAp and bone cells are the main factors affecting bone quality under loaded conditions. Our findings strongly suggest that understanding and accepting the current concept of bone quality is required in prosthetic dentistry.

Key words:

Bone quality, Collagen fibers, Biological apatite, Bone cells, Prosthetic dentistry

I. 緒 言

骨格系のホメオスタシスに重要な役割を担う骨組織は機械的刺激に反応性を示す。1867年に著名な解剖学者である Georg Hermann von Meyer と建築構造技術者で数学者の Karl Culmann は大腿骨近位部における海綿骨構造と応力曲線の間に顕著な類似性があることを発見した¹⁾。さらに 1869年には Julius Wolff も海綿骨構造と応力曲線の間に相関性があることを見出しており^{2,3)}、この有名な理論は「Wolff (ヴォルフ) の法則」と呼ばれ、機械的刺激に対して骨が適応変化すると考えられている⁴⁾。例えば、プロテニスプレーヤーにおけるラケットを持つ手や腕の骨は、反対側の手や腕よりも骨密度、直径、ならびに長さが増していることが報告されている⁵⁾。さらにトレーニングを十分に行っているアスリートでは、一般人よりも骨密度が大きいことが報告されている⁶⁾。反対に、4~6カ月間宇宙に滞在した宇宙飛行士では2~9%骨量が減少し、地球に帰還後、重力に起因して9カ月で骨密度は50%まで回復する⁷⁾。したがって、機械的刺激は骨組織の骨量と骨密度を変化させるといえる。

1987年に Harold Frost により提唱された、もうひとつの有名な理論である「Mechanostat (メカノスタット) 理論」によれば、機械的刺激によりもたらされる骨のひずみが骨の反応性を決定し、骨へのひずみが1,000~3,000 マイクロストrein (1,000 マイクロストreinは骨の長さが0.1%変化すること)であれば、皮質骨量の増大を認める骨モデリングが誘導されるが、骨へのひずみが100~300 マイクロストrein未満であれば、皮質骨と海綿骨量が減少する骨リモデリングが誘導され、さらに25,000 マイクロストreinに達すると骨折が起こると考えられている^{8,9)}。骨ひずみは流体剪断応力^{10,11)}、静水圧¹²⁾、なら

びに骨基質内の骨細胞自身の変形¹³⁻¹⁵⁾といった種々の機械的刺激に変換され、骨組織そのものではなく骨細胞が機械的刺激に反応して骨の恒常性を調節することが示唆されている。

2000年以前、骨強度は骨密度とほぼ同義として考えられていたが、2000年に米国国立衛生研究所はこの概念を否定し、骨強度は骨密度と新しいパラメーターである「骨質」から構成されることを提言した¹⁶⁾。骨質は「骨折への抵抗性に影響を与える骨の総合的な特徴」と定義され、骨密度とは完全に独立していることが大きな特徴であることから、骨強度の決定には骨密度だけでなく骨質の評価が必要不可欠である。骨密度の低下は骨折リスクを増大させるが¹⁷⁾、骨吸収抑制薬により骨密度を増大させても骨折リスクは低下しないことから¹⁸⁾、骨密度の増大は必ずしも骨折リスクの低下をもたらさないと考えられている。なお、米国国立衛生研究所は骨質の構成要素を「骨構造」、「骨代謝回転」、「石灰化」、ならびに「損傷の蓄積」に細分化している¹⁹⁾(図1)。近年では、骨細胞、生体アパタイト結晶(BAp)の配向性、ならびにコラーゲンなどで構成される「骨構造」に焦点を当てた研究が行われている。実際に本著者の中野らは、下顎骨を用い、BApの配向性は骨質の主要な決定要素のひとつであることを証明した(詳細は後述)²⁰⁾。一方、本著者の石本・中野らは、ウサギ尺骨の骨欠損モデルを用い、BApの配向度合いは骨密度よりも骨強度に強く関連することを証明した(詳細は後述)²¹⁾。さらに本著者の黒嶋・佐々木・澤瀬らは、骨細胞、BApとコラーゲン線維の優先配向がインプラント歯学において骨質を評価する新しい臨床的パラメーターになりうることを証明した(詳細は後述)²²⁾。以上から、われわれの一連の研究成果は、骨質を理解することが臨床的に必要不可欠であることを示唆している。

歯科領域において、機械的刺激が顎骨に与える影響はよく議論されている。顎骨には、咀嚼や嚥下のよう

^a 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科口腔インプラント学分野

^b 長崎大学病院口腔・顎・顔面インプラントセンター

^c 新潟大学大学院医歯学総合研究科生体歯科補綴学分野

^d 新潟大学医歯学総合病院冠・ブリッジ診療科

^e 大阪大学大学院工学研究科マテリアル生産科学専攻材料機能化プロセス工学講座生体材料科学領域

^a Department of Applied Prosthodontics, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, 1-7-1, Sakamoto, Nagasaki, 852-8588, Japan

^b Oral & Maxillofacial Implant Center, Nagasaki University Hospital, 1-7-1 Sakamoto, Nagasaki, 852-8588, Japan

^c Division of Bioprosthodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, 2-5274, Gakkocho-dori, Chuo-ku, Niigata, 951-8514, Japan

^d Niigata University, Medical and Dental Hospital, 2-5274 Gakkocho-dori, Chuo-ku, Niigata, 951-8514, Japan

^e Division of Materials and Manufacturing Science, Graduate School of Engineering, Osaka University, 2-1, Yamadaoka, Suita-cuty, Osaka 565-0871, Japan

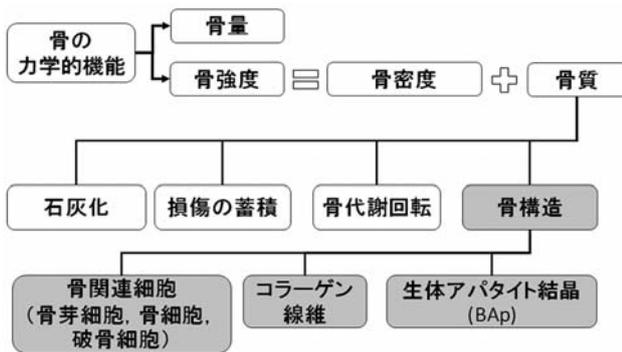


図1 新規概念の骨質。骨質は、「骨折への抵抗性に影響を与える骨の総合的な特徴」と定義され、骨密度とは完全に独立している。骨質は、骨構造、骨代謝回転、石灰化、ならびに損傷の蓄積から構成されている。さらに骨構造は、生体アパタイト結晶、コラーゲン線維、ならびに骨細胞、骨芽細胞ならびに破骨細胞のような骨関連細胞から構成されている。

な機能的荷重や、グライディング、クレンチングならびにタッピングのような非機能的荷重が恒常的に作用する。骨の外向性発育である下顎隆起や口蓋隆起は機能的および非機能的荷重と関連性があることが報告されている^{23,24}。天然歯に加わる矯正力は天然歯周囲骨における骨構造の変化を誘発する²⁵。咬合力は、しばしば歯周疾患に罹患した患者に対しては外傷として作用し、結果として歯周組織や歯槽骨の破壊をもたらされる²⁶。さらにオーバーロードは、安定しているインプラント周囲骨組織の骨喪失をもたらすと言われている²⁷。一方、歯科領域においては以前から「骨質」という専門用語が存在し、レントゲンと感覚的評価に基づいて骨密度と同義として広く認識されてきたことから、骨密度とは完全に独立する新規概念の「骨質」は歯科医師や歯科領域の研究者にとっては受け入れ難い²⁸⁻³⁰。すなわち、歯科以外の領域においては、骨密度に基づいた評価から新規概念に基づいた骨質評価へシフトしている一方で、歯科領域においては、いまだに骨密度に基づく骨質の評価がゴールドスタンダードとなっている。したがって、歯科補綴学を含む歯科学においては、新規概念の「骨質」を受容かつ理解することが強く求められている。しかしながら歯科補綴学で骨質を臨床応用するには、新規概念の「骨質」に基づいた研究が必要不可欠である。

本文献レビューの目的は、コラーゲン線維、生体アパタイト結晶、ならびに骨芽細胞や骨細胞を含む骨関連細胞に焦点を当て、新規概念の「骨質」に関する情報を提供し、この概念に基づいた革新的な歯科領域の研究について議論することにある。

II. コラーゲンからとらえた骨質

1. 骨組織におけるコラーゲン

コラーゲンは骨有機成分の主要な構成要素であり、その含有率と2次的構造の変化が骨質に影響を与えることが古くから指摘されてきた³¹⁻³³。骨の機械的特性におけるコラーゲンの重要性はホルマリン固定³⁴、熱処理^{35,36}、ならびにX線照射^{37,38}等、コラーゲンの不可逆的な変性を伴う研究方法により明らかにされてきた。これら一連の研究の結果、コラーゲンは骨の機械的特性の中でも主として靱性に寄与し、骨の無機成分を構成するハイドロキシアパタイトは剛性と強度を担うことが明らかとなっている³⁹⁻⁴¹。

骨形成不全症は全身的な易骨折性や進行性の骨変形を呈する先天性疾患であり、その90%以上はI型コラーゲンをコードする遺伝子 (*COL1A1*, *COL1A2*) の変異に起因する。骨形成不全症における骨中のI型コラーゲンの量や2次的構造の変化による易骨折性は、骨密度 (骨密度) の変化とは独立して生じることが報告されている⁴²。これまで、I型コラーゲンをコードする遺伝子に変異を認めない骨形成不全症の原因は不明であったが、最近の研究から一部の劣性骨形成不全症の原因はI型コラーゲンの翻訳後修飾に関わる遺伝子の多型・変異で起こることが報告されている⁴³。

2. I型コラーゲンの翻訳後修飾

I型コラーゲンは骨有機成分の約90%を占める主要な構成要素であるが、骨のみならず、皮膚、腱、靭帯、角膜、血管等の組織においても主要な構成タンパク質である。興味深いことに、これらの組織においては同じI型コラーゲンが主成分であるにも関わらず、その性質や機械的特性は極めて多様である。この多様性の少なくとも一部はI型コラーゲン翻訳後修飾の違いによるものであり、その結果として、組織ごとに異なる種類や量のコラーゲン分子間架橋結合(クロスリンク)が形成される⁴⁴。

I型コラーゲンの生合成は、翻訳後修飾を含めた極めて多くの、そして複雑な経路をたどることが知られている⁴⁵。細胞内外における一連の翻訳後修飾はコラーゲンのクロスリンクと、機能的なコラーゲン線維の形成に極めて重要である。I型コラーゲンの翻訳後修飾には多くのコラーゲン特異的な修飾酵素と分子シャペロンが介在している^{46,47}。さらに加齢⁴⁸、全身性疾患 (骨粗鬆症、大理石骨病、骨形成不全症、糖尿病等)^{32,49}、機械的刺激⁵⁰⁻⁵⁴等、多くの要素がこの翻

訳後修飾に影響を及ぼすことが報告されている。

I型コラーゲンは、3重らせんまたはテロペプチドに存在する特定のリシンもしくはヒドロキシリシン（水酸化されたリシン）に対して異なるタイプのクロスリンクを形成する。リシン残基の水酸化は3種の酵素から成るリシン水酸化酵素群（LHs:Lysyl Hydroxylases）によって制御されている。現時点では3種のリシン水酸化酵素（LH1-3）が同定され、LH1は3重らせん特異的、LH2は3重らせんを形成しないテロペプチド特異的なリシン水酸化酵素であり、LH3はリシン水酸化酵素に加えて糖転位酵素としての活性を有する多機能分子であることが報告されている。LHsの活性はクロスリンクの種類を決定する上で極めて重要であり、I型コラーゲン中のリシン残基の水酸化の程度は、組織の種類や病的状態によっても変化することが報告されている^{45,55,56}。

LH2をコードする*PLOD2*は、低身長、骨脆弱性、先天性関節拘縮等を呈するブルック症候群（Bruck syndrome）の原因遺伝子であることが同定されている。ブルック症候群患者では、骨中リシン残基の水酸化の程度が低い一方、軟骨や靭帯におけるリシン残基の水酸化は正常であり、クロスリンクにも異常は認められない^{57,58}。また、骨とセメント質を結合する歯根膜においては、機械的刺激によって誘導されるLH2の発現が歯槽骨側のみに観察され、セメント質側には認められないことが報告されている⁵³。さらに、LH2の活性に必須である2量体形成に必要な*FKBP65*タンパクをコードする*FKBP10*遺伝子の変異は、LH2の変異によるブルック症候群と同様の症状を示し、骨中I型コラーゲンテロペプチドにおける水酸化の低下を認める^{59,60}。以上のように、コラーゲン修飾酵素のみならず、その活性に関わる分子ネットワークが、骨組織特異的な機械的特性の付与に寄与していると考えられる。

3. コラーゲン・クロスリンク

コラーゲン・クロスリンクは骨質を規定する主要因子のひとつであり、骨の機械特性に影響を与えることから、骨折の危険因子として注目されてきた^{44,61-63}。クロスリンクには、酵素反応により形成されるものと、終末糖化産物（AGEs: Advanced Glycation End Products）等によって形成される酵素反応を介さないものの2種に分類されるが、両者とも骨の機械的強度に影響を与える。酵素反応を介さないものは自然発生的な糖化によって進行することから、コラーゲンの生合成とは独立した経路で形成され、主に骨を脆弱

化させる。

前述のようにLHsの活性がクロスリンクの種類を決定する一方、リシン酸化酵素（LOX: Lysyl Oxidase）はクロスリンクの量を制御している。クロスリンクの機能について、LOXの不可逆的な阻害剤であるAminoacetonitrile（AAN）やBeta-aminopropionitrile（BAPN）等の、いわゆるLathylogenを用いて研究が行われてきた^{53,61,63}。4週間のBAPN腹腔内投与により、ラット大腿骨におけるクロスリンクが45%、また、曲げ強さが26%低下することが明らかにされている⁶¹。さらにマウスを用いた実験でも、3週間のBAPN腹腔内投与により骨密度の変化は認められないが、クロスリンクと骨強度の低下が報告されている⁶³。これらの結果は生合成の過程を経て形成されるコラーゲン・クロスリンクが骨密度の変化とは独立して骨強度に影響を及ぼしていることを示しており、骨折リスクの臨床診断において、現在最も普及している骨密度とは異なる方法の必要性を示唆している。

クロスリンクの量を規定するLOXの活性は、酵素によるタンパクの切断や他の細胞外基質タンパクとの相互作用によっても制御されている。Periostinは骨や歯根膜に代表される線維性結合組織に高発現するマトリセルラータンパクであり、コラーゲンに結合してBone morphogenetic protein 1（BMP1）による非活性型pro-LOXから活性型LOXへの切断による活性化に関与している⁶⁴。また、Small leucine-rich proteoglycans（SLRPs）に属するFibromodulinはLOXと結合し、I型コラーゲン上の特定のクロスリンク形成部位を標的として、クロスリンクや線維形成に影響を与えることが報告されている^{65,66}。これらの結果は、クロスリンクの形成においてはLOX自身の発現だけでなく、その活性に影響を与える分子の、組織における発現パターンの違いが、組織特異的なクロスリンクの形成に影響を与えることを示している。

クロスリンクは本来の構造体としての機能だけでなく、コラーゲン分子内のクロスリンク形成部位における石灰化起点との相関についても報告がされている⁶⁷。生体内における石灰化はSmall integrin-binding ligand N-linked glycoproteins（SIBLINGs）等の非コラーゲン性の酸性タンパクによるものであるとの説がある一方で⁶⁸、培養系においては、I型コラーゲンは他のいかなるタンパク質も存在しない環境で石灰化が可能であるという報告もある⁶⁹。現時点では明確な根拠は示されていないものの、これまでの多くの観察研究から、クロスリンク形成部位が石灰化起点としても重要である可能性が示唆されている。

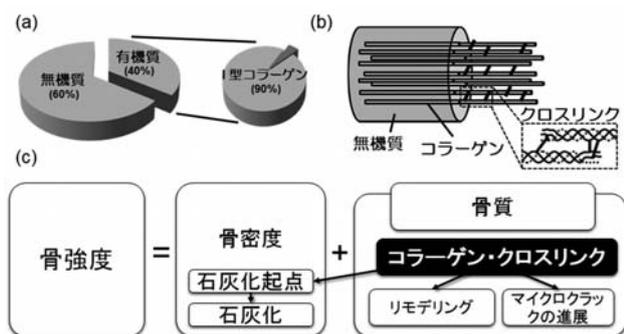


図2 骨におけるコラーゲン・クロスリンクの機能. (a) 骨は約60%の無機質と約40%の有機質から構成され、有機質の90%以上はI型コラーゲンである. (b) コラーゲン生合成の過程で酵素反応によって形成される架橋結合(クロスリンク)はコラーゲン分子同士を結合し、骨の構造的テンプレートとなる. (c) 骨密度は骨強度の約60%を規定するが、骨密度非依存的な残りの40%が“骨質”と呼ばれる. 最近の研究から、コラーゲン・クロスリンクは、コラーゲンの2次的構造として骨質に影響を与えるだけでなく、骨質に影響を与える他の因子(リモデリング、マイクロクラックの進展、石灰化起点等)にも影響を及ぼす可能性が示唆されている.

コラーゲン・クロスリンクは架橋構造としてコラーゲン分子の安定化に寄与していることから、主に骨の機械的強度を決定する因子として認識され、疫学研究においても骨折リスクとの相関が報告されている⁶²⁾. 不適切なコラーゲンの翻訳後修飾に起因するクロスリンクの変化は、加齢や多くの全身性疾患でも見出されている^{33,48,49)}. また、クロスリンクの変化が、骨芽細胞の分化に影響を与えることが報告されており^{70,71)}、クロスリンクは骨芽細胞活性を介して骨のリモデリングや石灰化など、これまで考えられていたよりも積極的に骨質に影響を与えている可能性が示唆される. したがって、コラーゲン・クロスリンクの定性的・定量的な解析は、コラーゲンの2次的構造に限定されない、骨質をより多面的に評価出来るツールとしても有効な可能性がある.

コラーゲン・クロスリンクは骨折リスクに影響を及ぼす、骨質の代表的な要素のひとつである. 近年の研究により骨組織特異的なI型コラーゲンのクロスリンク形成メカニズムについても明らかとなりつつある. 本稿でも紹介した骨中のコラーゲン翻訳後修飾に関する研究の大部分は長管骨を用いたものであるが、顎骨におけるコラーゲンの特性は長管骨とは異なる可能性も指摘されており⁷²⁾、顎口腔領域における適応については注意が必要である. また、クロスリンクはコラーゲンの2次的構造として骨質に影響を与えるだけでなく、骨質に影響を与える他の因子(リモデリング、

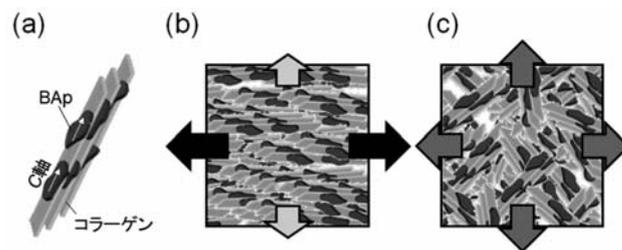


図3 生体アパタイト (BAp)・コラーゲン配向性と骨の力学特性の異方性との関連. (a) BAp/コラーゲンの複合体としての骨の微細構造の模式図. BAp-c軸はコラーゲンの線維方向とほぼ一致する. (b) 一軸配向したBAp/コラーゲンならびにその結果として発現する力学特性の異方性. この場合、優先配向方向(図の水平方向)に高い力学特性を示す. (c) 等方的に分布したBAp/コラーゲンならびにその結果としての等方的な力学特性. 図(b), (c)中の矢印はヤング率等の力学特性指標を表す.

マイクロクラックの進展、石灰化起点等)にも影響を与えている可能性が示唆されている(図2). 今後顎骨などの部位や組織特異的なI型コラーゲン翻訳後修飾の研究によって、より包括的な骨の病的状態の把握や骨折リスクの高精度診断等が可能となることが期待される.

III. 生体アパタイト (BAp) 結晶からとらえた骨質

1. 骨組織における生体アパタイト (BAp)・コラーゲンの優先配向性

結晶学的集合組織と優先配向性、すなわち原子、イオン、分子の周期的な配列構造は、金属、セラミックス、高分子やそれらの複合材の力学機能をはじめとする種々の機能を決定する重要な因子である. 例えば、骨の主要な無機成分であるBApは一般的に大きな異方性を示す六方晶系の結晶構造を有している. 実際BApは材質パラメーターであるヤング率の異方性を示し、単結晶のナノインデンテーション試験の結果、結晶学的c軸に沿ったヤング率が、それと垂直なa軸方向のヤング率よりも高いことが示されている⁷³⁾. BApとコラーゲンは骨中において骨部位に特有の配向化構造を有する²⁰⁾ことが、X線、中性子線ならびに電子線を用いた回折解析⁷⁴⁾により明らかにされている. 生体内での自己組織化において、テンプレートとしてのコラーゲンに対しBApがエピタキシャルに

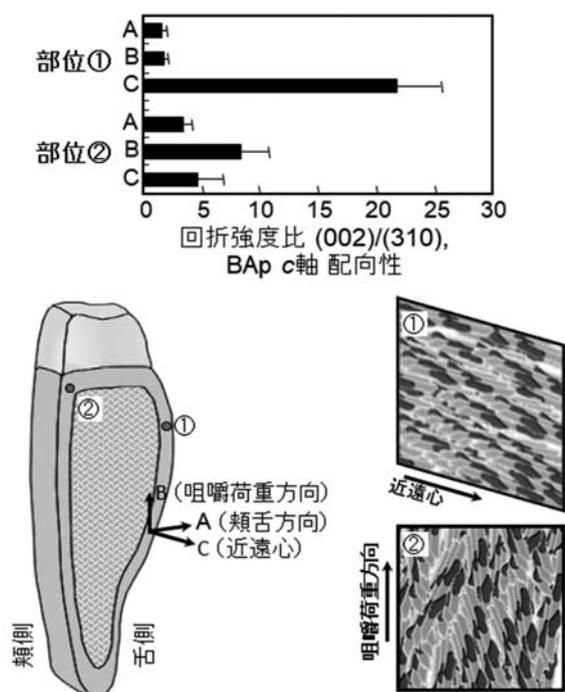


図4 下顎骨におけるBAp-c軸/コラーゲンの配向分布。歯冠から離れた皮質骨部(部位①)は近遠心への一軸配向性を示す一方で、歯冠直下(部位②)では咀嚼荷重方向に優先配向方向が変化する²⁰⁾。

晶出⁷⁵⁾することで、骨中でBAp-c軸とコラーゲンの線維方向はほぼ平行に存在し、骨はいわゆる配向化ナノコンポジットを形成している。こうした両者の配向に基づき、骨はその優先配向方向に高い強度と靱性を持つ(図3)。すなわち、BAp-c軸の配向度合が骨の力学機能とその異方性を決定づけるといえる。

実際BAp-c軸の三次元的配向分布は、*in vivo*での主応力分布と良く一致することが見出されている。このことは、特徴的な力学環境にさらされる下顎骨において顕著に認められる。下顎骨の中でも歯冠から離れた下顎体の皮質骨では、近遠心に沿った一軸的な配向性が認められる^{20,74,76)}。一方、歯冠のごく近傍の皮質骨においては、咀嚼方向と平行に優先配向性を示す(図4)²⁰⁾。すなわちBAp-c軸の配向方向は、顎骨支持を担う筋肉や咀嚼により生じる主応力の方向と一致する。さらに長管骨では骨長軸に沿った一軸配向、また、頭頂骨は骨面に沿った二次元的配向分布を示す²⁰⁾ことから、配向方向と主応力方向の一致は明らかである。

2. 骨力学機能に対するBAp配向性の寄与～骨質指標としての妥当性～

BAp-c軸の配向性における骨力学機能への寄与を明らかにするために、ウサギ尺骨(長管骨)の再生モデルを作製し、再生過程におけるBAp配向性と力学機能指標としてのヤング率の変化を解析した。さらに、従来の骨機能評価指標としての骨密度も定量評価した。BAp配向性とヤング率は、主応力負荷方向であり優先配向方向である骨長軸に沿って解析した⁷⁷⁾。

ウサギ尺骨の再生過程において、骨密度は欠損導入後12週間で正常値まで回復したものの、その時点でBAp配向性は全く回復してはおらず、BAp配向性の完全回復までにはその後さらに12週を要した。欠損導入12週間後のヤング率は正常値の60%程度までしか上昇しておらず、このことから、骨密度のみでは骨の力学機能を完全には説明できないことが示唆された²¹⁾。同様に、多くの研究において、骨強度評価における骨密度測定の限界が示されている⁷⁸⁻⁸⁰⁾。相関解析と重回帰分析の結果、この再生骨においては、BAp配向性が骨密度よりもヤング率に対して重要な寄与を有することが明らかとなった²¹⁾。この結果は、骨再生過程の特に後期において報告されている骨密度と骨強度との不相关性、すなわち、骨密度の上昇を伴わない骨強度の上昇^{81,82)}の説明となり得る。BApとコラーゲンが本質的に持つ力学的異方性に基づき、それらの配向化ナノコンポジットとしての骨は異方的な力学機能を発揮し、その異方性は配向度が顕著になるほど大きくなる。したがって、配向性が上昇することで、優先配向方向への力学機能は、BApの密度(骨密度)の上昇なく向上する。

このようなBAp配向性と力学機能の正相関は、再生骨のみならず正常骨や疾患骨^{83,84)}、歯の象牙質⁸⁵⁾においても認められる。すなわち、BAp-c軸の配向性は有力な骨質指標であり、種々の生体硬組織における力学機能の評価、予測に有効であるといえる。

3. 骨評価、薬剤、ならびにインプラントを用いた骨治療におけるBAp配向性の有用性

BAp-c軸の配向性が骨の力学機能を決定することから、配向性は骨評価や骨治療、歯科・整形外科インプラントの開発の指標として適用され始めている。BAp配向性を指標とした骨再生度合評価^{21,86)}、骨粗鬆症⁸⁷⁻⁸⁹⁾、変形性関節症⁹⁰⁾、大理石骨症^{91,92)}、ならびに癌の転移骨^{83,84)}といった骨疾患の病態評価が報告されている。例えば、エストロゲン欠乏による原発性骨粗鬆症モデル(ラットの卵巣摘出モデル)においては、

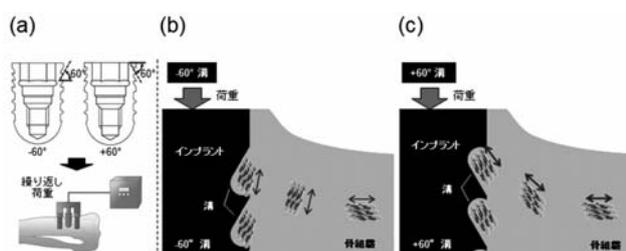


図5 インプラント表面に導入された配向化溝構造が、骨のBAp/コラーゲン配向性に与える影響。(a) インプラントデザインとインプラントのウサギ脛骨への埋入、ならびに繰返し負荷。(b, c) 溝角度が -60° ならびに $+60^\circ$ の場合のインプラント周囲でのBAp/コラーゲン配向化。溝角度が $+60^\circ$ の場合のみ、連続的な主応力分布の結果、配向性は溝内部から脛骨まで連続的に変化した。本図はCC BY-NC-ND ライセンス下で出版されている文献²²⁾から引用された。

腰椎における主応力方向である頭尾軸に沿った配向性が有意に上昇する⁸⁸⁾。この場合、骨粗鬆症に伴う骨量減少による応力負荷の増大に対し、主応力方向への配向性を上昇させ力学的異方性を高めることで、骨組織が適応したことが一因と考えられる。ただし、主応力方向（頭尾軸）への配向性上昇は、それ以外の方向への負荷に対する強度の低下につながることから、必ずしも健全な状態とはいえない。アルファカルシドール、リセドロネート、アレンドロネート、ミノドロネート、テリパラチドといった骨粗鬆症治療薬の骨質に対する影響もBAp配向性に基いて解析されており^{88, 93-95)}、この中のいくつかの薬剤では頭尾軸への配向性の過上昇を抑制することが報告されている。一方で骨粗鬆症とは反対に骨吸収不全による高骨量を呈する大理石骨症では、配向性が有意に低下し、骨密度が等価であるにも関わらず低強度を示すことが報告されている⁹¹⁾。

近年、インプラントデザインにおけるBAp/コラーゲン配向性の有用性が見出され、最適な配向性を誘導する金属性インプラントが提案されている。インプラント表面に特定の角度で導入した配向溝構造が優先配向性を持つ骨組織を溝内部に誘導し、結果として周囲骨に対して連続的な配向性分布を形成する(図5)^{22, 96)}。この結果は、適切な角度で付与された溝構造は、溝内部に形成された骨を通じて周囲骨への荷重伝達を促すことを示唆している。その証拠として、溝内部の骨において骨細胞数の増加と主応力方向への優先配列化が認められている。通常、金属製のインプラントを骨に埋入すると、インプラントと骨におけるヤング率の差異に伴う応力遮蔽現象が生じる⁹⁷⁾。応力遮蔽

は顕著な骨溶解と骨質の劣化^{98, 99)}を生じ、結果として骨折リスクを増大させることから、インプラント治療における重大な問題となっている。インプラント表面への溝構造の導入は、応力遮蔽を回避し最適な骨質を持つ骨組織を得るために有用な方法論である。こうした研究の成果として、2017年7月に、ネック部に配向溝を付与したデンタルインプラント(FINSIA, 京セラ)が本邦で上市化され、臨床適用が既に始まっている。

4. BAp配向性の人為的誘導・制御

骨再生時における骨機能向上を図るためには、人為的なBAp配向性の制御が有力な手段である。人為的配向化制御は2つの方法で試みられている。前述のように骨配向性が力学的負荷に対応して形成されることを利用しての人為的応力負荷を用いる方法¹⁰⁰⁾と、力学的負荷を用いずに異方性基板を用いて骨芽細胞を配列化させ、配列化した骨芽細胞から配向を有するコラーゲンを分泌させる手法である。本稿では後者について解説する。

基板表面のパターニングによる細胞配列化は形態追従(コンタクトガイダンス)効果としてよく知られている。近年の研究で、骨芽細胞の配列化が配向化した骨基質(BAp/コラーゲン)の産生に極めて重要であることが明らかとなった。骨芽細胞配列は、金属の塑性変形^{101, 102)}やレーザー誘起表面周期構造(LIPSS)処理¹⁰³⁾による金属表面の一方向性周期構造(筋構造)や、異方的分子配列を有するコラーゲン基板¹⁰⁴⁾によって達成可能であることが報告されている。骨芽細胞の産出したコラーゲン線維ならびにコラーゲン上に晶出したBAp-c軸は細胞伸展方向に平行に優先配向性を有する。さらに、BAp配向性の度合は骨芽細胞配列の度合を反映する。すなわち、より配列化した骨芽細胞は、より配向化した骨基質を産生する。つまり、骨芽細胞配列が骨配向性を決定すると考えることから、骨芽細胞の配列化制御は骨類似の配向化基質を獲得する有効な手段となる。本手法を骨再生初期に適用することで、本来、応力負荷が達成されない再生初期には無配向の幼弱骨が形成されるにも関わらず、初期より配向化した高機能骨の誘導が可能となると期待される。

以上のように、BAp/コラーゲンの優先配向性は骨の力学機能の異方性を支配する。骨が異方的な応力場の中で機能を発揮していることを考えれば、これからの骨評価、治療、インプラント開発、創薬等において、骨ナノ構造の異方性を反映する配向性を考慮する

ことは必要不可欠であると考えられる。

IV. 骨細胞からとらえた骨質

1. 骨組織における骨細胞

骨細胞は骨表面上の骨芽細胞が分化して骨小腔に存在している細胞で、骨組織における骨関連細胞の約 90～95% を占める¹⁰⁵⁾。骨細胞は *in vitro* での樹立が困難であり、長い間その機能は不明であった。さらに上記の理由から、主に組織形態学的な観点から骨細胞の機能が推測されてきた。しかし 1992 年と 1997 年に鳥とマウスから骨細胞¹⁰⁶⁾ と骨細胞様細胞 (マウスの長骨由来の MLO-Y4)¹⁰⁷⁾ がそれぞれ分離され、分子生物学と遺伝子導入技術も相まってその機能が明らかになってきた。しかしながら、MLO-Y4 は骨細胞特異的遺伝子である *Dentin matrix protein 1 (Dmp1)* や *Sost* の発現を培養環境により変化させ、2次元環境下ではほとんど発現しないが、3次元環境下では高い発現が認められるようになることが明らかとなっている¹⁰⁸⁾。したがって、MLO-Y4 を用いても骨細胞の本来の機能を解明することは現在でも困難であるといえる。

細胞特異的マーカーの発現パターンは、骨芽細胞が骨細胞へ分化する際に劇的に変化する。骨芽細胞は core-binding factor alpha 1 (cbfa1)/Runx-related transcription factor 2 (Runx2)¹⁰⁹⁾, osterix¹¹⁰⁾, alkaline phosphatase¹¹¹⁾, ならびにタイプ I コラーゲン¹¹²⁾ を優位に発現する一方で、骨細胞は phosphate-regulating neutral endopeptidase on the phosphatase-regulating neutral endopeptidase on the chromosome X (PHEX)¹¹³⁾, matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE)¹¹⁴⁾, E11 (podoplanin)¹¹⁵⁾, DMP1¹¹⁶⁾, Sclerostin¹¹⁷⁾, ならびに fibroblast growth factor 23 (FGF23)¹¹⁸⁾ を優位に発現することが報告されている。骨芽細胞からの分化段階で、これら特異的マーカーが発現変化を起こすことが骨細胞の特徴のひとつであるが、骨細胞特異的な蛋白発現は、アポトーシス、細胞活性、オートファジー、細胞シグナル伝達、ならびに機械的刺激の受容と関連性を有することが報告されている^{119,120)}。

骨細胞の樹状突起形成は、骨芽細胞が骨基質に埋め込まれながら分化する際の特徴である。樹状突起はギャップ結合を介して、近傍の骨細胞、骨芽細胞、ならびに骨ライニング細胞と結合する^{121,122)}。ギャップジャンクションはコネキシン (Cx) から形成される膜貫通型のヘミチャネルで、細胞内シグナル伝達分子、

イオン、ならびに代謝産物といった、およそ 1 kDa より小さい分子は通過可能である。ラット顎骨における骨細胞¹²³⁾ とマウス骨細胞である MLO-Y4¹⁰⁷⁾ では偏在的に Cx43 の発現が認められ、MLO-Y4 は Cx45 も発現することが報告されている¹²⁴⁾。コネキシンを含むギャップジャンクションは、骨細胞特異的蛋白質と同様に、細胞増殖、細胞分化、アポトーシス、オートファジー、細胞シグナル伝達、ならびに機械的刺激の受容に関連することが明らかにされている^{121,122)}。

近年、米国国立衛生研究所は、骨構造、骨代謝回転、骨の石灰化、ならびに損傷の蓄積として骨質を定義した¹⁹⁾。デンタルインプラントを用いたわれわれの実験においては、規則的な繰り返し荷重は、骨細胞数と樹状突起数の増加とともにコラーゲン/BAp-c 軸の優先配向を誘導して骨構造を適応変化させていることが明らかとなった¹²⁵⁾。さらにわれわれは、ヒップインプラントを用いた動物モデルから、骨細胞の優先配向は、機械的刺激の主応力方向に沿うように優先配向することを突き止めた⁹⁶⁾。すなわち、コラーゲン線維/BAp-c 軸の優先配向だけでなく、骨細胞もまた、新規概念である「骨質」を制御する重要な役割を果たすと考えられる。

2. 骨細胞における機械的刺激の受容

骨組織は重力、日常動作、種々の運動などの動的および/または静的な荷重を恒常的に受けている。適切な機械的荷重は骨量を増加させるが、機械的の喪失は骨量減少を誘導する¹²⁶⁾。このことは、骨組織は機械感受性が高い組織であることを意味している¹²⁷⁾。

機械的荷重に対する骨組織の応答メカニズムが明らかになりつつある。荷重は主として、剪断応力、静水圧、ならびに細胞自身の変形といった機械的刺激へと変換される。付与された荷重は、骨組織には「ひずみ」として受容される。メカノスタット理論によれば、骨基質への 1,000～3,000 マイクロストレインのひずみは骨量を増大させ、100～300 マイクロストレインのひずみは、骨量を減少すると考えられている^{8,128)}。機械的なひずみは、骨細胞と樹状突起周囲の骨基質を変形させ、骨細胞の樹状突起周囲に流体剪断応力を発生させる。最終的に骨細胞は、流体剪断応力を感知してシグナル伝達物質を産生する^{129,130)}。以上から骨芽細胞や破骨細胞ではなく、機械的刺激に反応する最も関連性の高い細胞は骨細胞であると考えられている。

骨細胞において Cx43 は、機械的刺激に反応する重要な調整分子のひとつであると考えられている。生理的環境下において、Cx43 に関連するヘミチャネルは

通常閉じている。 *in vitro* では、骨細胞におけるこれらのヘミチャネルは機械的刺激に反応してプロスタグランジン E2 やアデノシン 3 リン酸 (ATP) のようなアナボリック因子を放出する^{131,132}。さらに、機械的負荷環境下における AKT キナーゼの活性化は、Cx43 に関連するヘミチャネルの開口に極めて重要な役割を果たすことが証明されている¹³³ ことから、Cx43 は機械荷重を受容するために必要不可欠な分子であると考えられている。しかし興味深いことに、Cx43 を欠損した骨細胞でも機械荷重に反応して骨量が増加することが示された^{134,135} が、これらの研究結果はこれまでの結果と相反しており、このことは荷重環境下での骨細胞における Cx43 の役割がさらに解明されるべきであることを示している。

機械的刺激に反応して、骨細胞では形態的および数的変化が認められる。腓骨の骨細胞はより扁平で、頭蓋骨の骨細胞はより球状であるような、部位特異的な骨細胞の形態変化が報告されているが、これらの形態的变化は、腓骨と頭蓋骨に対する優先的な機械刺激方向が、それぞれ一方向性と二方向性であることに起因すると考えられている¹³⁶。さらに扁平な骨細胞と比較して球体の骨細胞の方が、機械的刺激に対して感受性がより高いことが¹³⁷、また、このような現象は流体剪断応力による骨細胞自身の変形で起こることなどが報告されている¹³⁸。近年われわれは、荷重環境下において、デンタルインプラント周囲の骨組織では骨細胞数が増加して骨細胞ひとつずつの樹状突起も増加し、さらに形態を球状に変化させることを明らかにした。以上から、デンタルインプラントを介した規則的な繰り返し荷重は骨細胞の形態変化を誘発しながら、骨細胞ネットワークを発達させることが示唆されている¹²⁵。したがって、機械的刺激に対する骨細胞の形態的变化は、骨質制御に重要な役割を果たすのかもしれない。

一方骨細胞は、カルシウムが不足している間は骨小腔辺縁のカルシウムを取り込むことが可能で (骨細胞性骨溶解)、カルシウムが充足している際には新基質を形成できることが報告されており¹³⁹、骨細胞の形態や優先配向が機械的刺激に常に依存しているわけではないことが示唆される。骨芽細胞の優先配向 (III-4 参照) と骨細胞の優先配向は骨質の主要な調節因子なのかもしれない。

近年では、骨細胞のプライマリーシリアもまた機械的受容器であることが考えられている。プライマリーシリアは、骨細胞を含むほぼすべての哺乳動物の細胞表面から伸びる 1 本の不動繊毛である^{140,141}。骨細胞

は静水圧に反応して、シリア依存性にシクロオキシゲナーゼ 2 (COX-2) 遺伝子発現とプロスタグランジン E2 産生増加が起こる¹⁴²。さらにプライマリーシリアと関連する polycystic kidney disease 1 (Pkd1) の骨細胞における特異的な欠損は、マウス骨細胞と骨芽細胞の骨格的機械的受容を喪失させるという報告がある^{143,144}。従って、骨細胞におけるプライマリーシリアは機械的受容器としての役割を担うと考えられている。しかしながら、骨細胞のプライマリーシリアと荷重の直接的関係を証明するには、さらなる研究が必要であるといえる。

3. 薬物療法を介した骨細胞における骨質の向上

骨粗鬆症とは、低骨量と骨微細構造の劣化により骨の脆弱性が増加し、骨折リスクが増大することを特徴とする疾患である¹⁴⁵。骨粗鬆症の治療には、女性ホルモン、選択的エストロゲンモジュレーター、カルシウム製剤、ビタミン D3、パラチロイドホルモン (PTH) 製剤、抗 RANKL 抗体製剤、ビスフォスフォネート製剤などが主として用いられている。例えばビスフォスフォネート製剤は、破骨細胞のメバロン酸経路における重要な酵素を障害して破骨細胞活性を抑制して骨量を増大させる¹⁴⁶。さらに PTH 製剤の間欠的投与は、骨細胞におけるスクレロステチンの産生を抑制することで骨量を増加させる¹⁴⁷。このように、ビスフォスフォネート製剤と PTH 製剤は作用が全く異なるものの、骨量に影響を与えることが示されている。PTH 製剤による治療を行うと、まず初めに骨形成マーカーが急速に上昇し、その後骨吸収マーカーも上昇する¹⁴⁸。したがって、PTH 製剤の間欠的投与は骨量を改善するだけでなく、破骨細胞、骨芽細胞、ならびに骨細胞などの骨関連細胞をバランスよく調節することにより、骨質の改善を行うと考えられている。反対に、ビスフォスフォネート製剤による治療は破骨細胞の機能を強く阻害する。その結果、長期間にわたるビスフォスフォネート製剤の使用は、修復不能な骨組織のマイクロダメージをもたらし、結果的としてマイクロダメージの蓄積と大腿骨頭の骨折リスクが増大する。実際に大腿骨頭部骨折はビスフォスフォネート製剤治療における副作用であることが報告されている¹⁴⁹。したがって、ビスフォスフォネート製剤による治療は、骨質を向上することなく骨量のみを増加させていると考えられる。

以上をまとめると、骨関連細胞の中では、骨細胞が優勢的に機械受容器として機能しているといえる。しかしながら、顎骨の骨細胞は、長骨の骨細胞とは機能などが異なることが予想されているため、顎骨の骨細胞

胞における機械的刺激の受容メカニズムは依然として不明である。BAP やコラーゲン線維と同様、骨関連細胞が制御する骨質を解明するため、機械的刺激が骨関連細胞に与える影響を検索した *in vitro* と *in vivo* の研究が必要である。

V. 結論と将来展望

米国国立衛生研究所が2000年に骨質に関する論文を報告して以来¹⁶⁾、さまざまな骨質に関するパラメーターが提唱されている。これらのうち、近年の研究によれば、骨の力学的機能を反映する有力な骨質パラメーターが示されている。骨の診断や治療に対し、骨密度のみならず、このような有意義な骨質パラメーターが歯科領域や内科領域に適用されることのメリットは大きいと期待する。しかしながら臨床適用のためには、それぞれの骨質パラメーターを支配する基礎的なメカニズムや相互作用を十分に理解する必要がある。本レビューで議論されているように、顎骨はコラーゲン線維、生体アパタイト (BAP) 結晶、ならびに骨関連細胞という観点から極めて特異的な特性を有しているが、これは発生学的な要因ならびに顎骨への独特な荷重環境に起因するために長管骨とは異なっていると考えられる。したがって、顎骨の臨床診断を支持する科学的根拠の集積が極めて重要である¹⁵⁰⁻¹⁵²⁾。現在、遺伝的、分子的、細胞的、ならびに組織に関連した現象を含むメカニズムを解明するためにさらなる研究が進行中である。本レビューで紹介した、生体アパタイト結晶 (BAP) /コラーゲンの配向性、コラーゲン線維の特性、ならびに骨関連細胞などの骨質パラメーター間の相互作用を含む関連性が現在解明されつつある。例えば、AGE クロスリンクと BAP の配向性の度合いとの負の関連性が示唆されている⁸⁵⁾。さらに骨細胞ネットワークと BAP /コラーゲン配列における異方性の同調的変化が報告されている^{83,84,153,154)}。歯科領域や整形外科領域において有益かつ臨床的に適用可能な骨質パラメーターの確立に向けたさらなる研究が強く望まれる。

利益相反

著者らは本レビューにおいて利益相反がないことを表明する。

謝 辞

本研究は日本学術振興会科学研究費によりサポートを受けている (黒嶋伸一郎: Nos. JP25870523 と JP15K11258,

澤瀬 隆: JP15H05030, 中野貴由: No. JP25220912, 加来 賢: JP15K15704, 石本卓也: No. JP16H04517)。

文 献

- 1) Meyer G. Archief fur den anatomische und physiologischen Wissenschaften im Medizin. Die Architektur der Spongiosa 1867; 34: 615-628.
- 2) Wolff J. Ueber die Bedeutung der Architectur der spongiosen Substanz fur die Frage vom Knochenwachstum. Centralblatt fur die medicinischen Wissenschaften 1869; 54: 849-851.
- 3) Wolff J. Ueber die innere Architectur der Knochen und ihre Bedeutung fur die Frage vom Knochenwachstum. Virchows Archiv Pathol Anat Physiol 1870; 50: 389-450.
- 4) Wolff J. Das Gesetz der Transformation der Knochen. A Hirschwald, Berlin. Springer-Verlag, 1982.
- 5) Krahl H, Michaelis U, Pieper HG, Quack G, Montag M. Stimulation of bone growth through sports. A radiologic investigation of the upper extremities in professional tennis players. Am J Sports Med 1994; 22: 751-757.
- 6) Chilibeck PD, Sale DG, Webber CE. Exercise and bone mineral density. Sports Med 1995; 19: 103-122.
- 7) Smith SM, Heer M, Shackelford LC, Sibonga JD, Spatz J, Pietrzyk RA et al. Bone metabolism and renal stone risk during International Space Station missions. Bone 2015; 81: 712-720.
- 8) Frost HM. Bone "mass" and the "mechanostat": a proposal. Anat Rec 1987; 219: 1-9.
- 9) Frost HM. Bone's mechanostat: a 2003 update. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol 2003; 275: 1081-1101.
- 10) Knothe Tate ML, Niederer P, Knothe U. In vivo tracer transport through the lacunocanalicular system of rat bone in an environment devoid of mechanical loading. Bone 1998; 22: 107-117.
- 11) Knothe Tate ML, Steck R, Forwood MR, Niederer P. In vivo demonstration of load-induced fluid flow in the rat tibia and its potential implications for processes associated with functional adaptation. J Exp Biol 2000; 203: 2737-2745.
- 12) Gardinier JD, Townend CW, Jen KP, Wu Q, Duncan RL, Wang L. In situ permeability measurement of the mammalian lacunar-canalicular system. Bone 2010; 46: 1075-1081.
- 13) Weinbaum S, Cowin SC, Zeng Y. A model for the excitation of osteocytes by mechanical loading-induced bone fluid shear stresses. J Biomech 1994; 27: 339-360.
- 14) Pavalco FM, Norvell SM, Burr DB, Turner CH, Duncan RL, Bidwell JP. A model for mechanotransduction in bone cells: the load-bearing mechanosomes. J Cell Biochem 2003; 88: 104-112.
- 15) Nicoletta DP, Moravits DE, Gale AM, Bonewald LF, Lankford J. Osteocyte lacunae tissue strain in corti-

- cal bone. *J Biomech* 2006; 39: 1735-1743.
- 16) Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. NIH Consens Statement 2000; 17: 1-45.
 - 17) Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ* 1996; 312: 1254-1259.
 - 18) Cefalu CA. Is bone mineral density predictive of fracture risk reduction? *Curr Med Res Opin* 2004; 20: 341-349.
 - 19) NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA* 2001; 285: 785-795.
 - 20) Nakano T, Kaibara K, Tabata Y, Nagata N, Enomoto S, Marukawa E, Umakoshi Y. Unique alignment and texture of biological apatite crystallites in typical calcified tissues analyzed by microbeam X-ray diffractometer system. *Bone* 2002; 31: 479-487.
 - 21) Ishimoto T, Nakano T, Umakoshi Y, Yamamoto M, Tabata Y. 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: 1170-1179.
 - 22) Kuroshima S, Nakano T, Ishimoto T, Sasaki M, Inoue M, Yasutake M et al. Optimally oriented grooves on dental implants improve bone quality around implants under repetitive mechanical loading. *Acta Biomater* 2017; 48: 433-444.
 - 23) Cortes AR, Jin Z, Morrison MD, Arita ES, Song J, Tamimi F. Mandibular tori are associated with mechanical stress and mandibular shape. *J Oral Maxillofac Surg* 2014; 72: 2115-2125.
 - 24) Morrison MD, Tamimi F. Oral tori are associated with local mechanical and systemic factors: a case-control study. *J Oral Maxillofac Surg* 2013; 71: 14-22.
 - 25) Wise GE, King GJ. Mechanisms of tooth eruption and orthodontic tooth movement. *J Dent Res* 2008; 87: 414-434.
 - 26) Davies SJ, Gray RJ, Linden GJ, James JA. Occlusal considerations in periodontics. *Br Dent J* 2001; 191: 597-604.
 - 27) Duyck J, Vandamme K. The effect of loading on peri-implant bone: a critical review of the literature. *J Oral Rehabil* 2014; 41: 783-794.
 - 28) Lekholm. U, Zarb. G. Patient Selection and Preparation. In: *Tissue-Integrated Prostheses. Osseointegration in Clinical Dentistry* (eds P.-I. Branemark, G. Zarb. & T. Alnreltsson). Quintessence, Chicago, IL; 1985, p.199-210.
 - 29) Misch CE. Density of bone: effect on treatment plans, surgical approach, healing, and progressive boen loading. *Int J Oral Implantol* 1990; 6: 23-31.
 - 30) Misch C. *Contemporary implant dentistry* 2nd edn. St Louis, MO: Mosby; 1999.
 - 31) Saito M, Marumo K. Effects of Collagen Crosslinking on Bone Material Properties in Health and Disease. *Calcif Tissue Int* 2015; 97: 242-261.
 - 32) Viguet-Carrin S, Garnero P, Delmas PD. The role of collagen in bone strength. *Osteoporos Int* 2006; 17: 319-336.
 - 33) Garnero P. The Role of Collagen Organization on the Properties of Bone. *Calcif Tissue Int* 2015; 97: 229-240.
 - 34) Unger S, Blauth M, Schmoelz W. Effects of three different preservation methods on the mechanical properties of human and bovine cortical bone. *Bone* 2010; 47: 1048-1053.
 - 35) Wang X, Bank RA, TeKoppele JM, Agrawal CM. The role of collagen in determining bone mechanical properties. *J Orthop Res* 2001; 19: 1021-1026.
 - 36) Fantner GE, Birkedal H, Kindt JH, Hassenkam T, Weaver JC, Cutroni JA et al. Influence of the degradation of the organic matrix on the microscopic fracture behavior of trabecular bone. *Bone* 2004; 35: 1013-1022.
 - 37) Currey JD, Foreman J, Laketic I, Mitchell J, Pegg DE, Reilly GC. Effects of ionizing radiation on the mechanical properties of human bone. *J Orthop Res* 1997; 15: 111-117.
 - 38) Barth HD, Launey ME, Macdowell AA, Ager JW, 3rd, Ritchie RO. On the effect of X-ray irradiation on the deformation and fracture behavior of human cortical bone. *Bone* 2010; 46: 1475-1485.
 - 39) Ammann P, Rizzoli R. Bone strength and its determinants. *Osteoporos Int* 2003; 14 Suppl 3: S13-18.
 - 40) Nyman JS, Reyes M, Wang X. Effect of ultrastructural changes on the toughness of bone. *Micron* 2005; 36: 566-582.
 - 41) Nyman JS, Roy A, Tyler JH, Acuna RL, Gayle HJ, Wang X. Age-related factors affecting the postyield energy dissipation of human cortical bone. *J Orthop Res* 2007; 25: 646-655.
 - 42) Langdahl BL, Ralston SH, Grant SF, Eriksen EF. An Sp1 binding site polymorphism in the COL1A1 gene predicts osteoporotic fractures in both men and women. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 1384-1389.
 - 43) Eyre DR, Weis MA. Bone collagen: new clues to its mineralization mechanism from recessive osteogenesis imperfecta. *Calcif Tissue Int* 2013; 93: 338-347.
 - 44) Knott L, Bailey AJ. Collagen cross-links in mineralizing tissues: a review of their chemistry, function, and clinical relevance. *Bone* 1998; 22: 181-187.
 - 45) Yamauchi M, Sricholpech M. Lysine post-translational modifications of collagen. *Essays Biochem* 2012; 52: 113-133.
 - 46) Canty EG, Kadler KE. Procollagen trafficking, processing and fibrillogenesis. *J Cell Sci* 2005; 118: 1341-1353.
 - 47) Trackman PC. Diverse biological functions of extracellular collagen processing enzymes. *J Cell Biochem* 2005; 96: 927-937.
 - 48) Nyman JS, Roy A, Acuna RL, Gayle HJ, Reyes MJ, Tyler JH et al. Age-related effect on the concentra-

- tion of collagen crosslinks in human osteonal and interstitial bone tissue. *Bone* 2006; 39: 1210-1217.
- 49) Saito M, Kida Y, Kato S, Marumo K. Diabetes, collagen, and bone quality. *Curr Osteoporos Rep* 2014; 12: 181-188.
- 50) Shiiba M, Arnaud SB, Tanzawa H, Uzawa K, Yamauchi M. Alterations of collagen matrix in weight-bearing bones during skeletal unloading. *Connect Tissue Res* 2001; 42: 303-311.
- 51) Shiiba M, Arnaud SB, Tanzawa H, Kitamura E, Yamauchi M. Regional alterations of type I collagen in rat tibia induced by skeletal unloading. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 1639-1645.
- 52) Saito M, Soshi S, Fujii K. Effect of hyper- and microgravity on collagen post-translational controls of MC3T3-E1 osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 1695-1705.
- 53) Kaku M, Rosales Rocabado JM, Kitami M, Ida T, Akiba Y, Yamauchi M et al. Mechanical Loading Stimulates Expression of Collagen Cross-Linking Associated Enzymes in Periodontal Ligament. *J Cell Physiol* 2016; 231: 926-933.
- 54) Kaku M, Yamauchi M. Mechano-regulation of collagen biosynthesis in periodontal ligament. *J Prosthodont Res* 2014; 58: 193-207.
- 55) Eyre DR, Weis MA, Wu JJ. Advances in collagen cross-link analysis. *Methods* 2008; 45: 65-74.
- 56) Uzawa K, Yeowell HN, Yamamoto K, Mochida Y, Tanzawa H, Yamauchi M. Lysine hydroxylation of collagen in a fibroblast cell culture system. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 305: 484-487.
- 57) van der Slot AJ, Zuurmond AM, Bardoel AF, Wijmenga C, Pruijs HE, Sillence DO et al. Identification of PLOD2 as telopeptide lysyl hydroxylase, an important enzyme in fibrosis. *J Biol Chem* 2003; 278: 40967-40972.
- 58) Bank RA, Robins SP, Wijmenga C, Breslau-Siderius LJ, Bardoel AF, van der Sluijs HA et al. Defective collagen crosslinking in bone, but not in ligament or cartilage, in Bruck syndrome: indications for a bone-specific telopeptide lysyl hydroxylase on chromosome 17. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 1054-1058.
- 59) Schwarze U, Cundy T, Pyott SM, Christiansen HE, Hegde MR, Bank RA et al. Mutations in FKBP10, which result in Bruck syndrome and recessive forms of osteogenesis imperfecta, inhibit the hydroxylation of telopeptide lysines in bone collagen. *Hum Mol Genet* 2013; 22: 1-17.
- 60) Kelley BP, Malfait F, Bonafe L, Baldrige D, Homan E, Symoens S et al. Mutations in FKBP10 cause recessive osteogenesis imperfecta and Bruck syndrome. *J Bone Miner Res* 2011; 26: 666-672.
- 61) Oxlund H, Barckman M, Ortoft G, Andreassen TT. Reduced concentrations of collagen cross-links are associated with reduced strength of bone. *Bone* 1995; 17: 365S-371S.
- 62) 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. *Osteoporos Int* 2010; 21: 195-214.
- 63) McNerny EM, Gong B, Morris MD, Kohn DH. Bone fracture toughness and strength correlate with collagen cross-link maturity in a dose-controlled lathyrism mouse model. *J Bone Miner Res* 2015; 30: 455-464.
- 64) Maruhashi T, Kii I, Saito M, Kudo A. Interaction between periostin and BMP-1 promotes proteolytic activation of lysyl oxidase. *J Biol Chem* 2010; 285: 13294-13303.
- 65) Kalamajski S, Liu C, Tillgren V, Rubin K, Oldberg A, Rai J et al. Increased C-telopeptide cross-linking of tendon type I collagen in fibromodulin-deficient mice. *J Biol Chem* 2014; 289: 18873-18879.
- 66) Kalamajski S, Bihan D, Bonna A, Rubin K, Farndale RW. Fibromodulin Interacts with Collagen Cross-linking Sites and Activates Lysyl Oxidase. *J Biol Chem* 2016; 291: 7951-7960.
- 67) Yamauchi M, Katz EP, Mechanic GL. Intermolecular cross-linking and stereospecific molecular packing in type I collagen fibrils of the periodontal ligament. *Biochemistry* 1986; 25: 4907-4913.
- 68) Veis A, Dorvee JR. Biomineralization mechanisms: a new paradigm for crystal nucleation in organic matrices. *Calcif Tissue Int* 2013; 93: 307-315.
- 69) Wang Y, Azais T, Robin M, Vallee A, Catania C, Legriel P et al. The predominant role of collagen in the nucleation, growth, structure and orientation of bone apatite. *Nat Mater* 2012; 11: 724-733.
- 70) Turecek C, Fratzl-Zelman N, Rumpler M, Buchinger B, Spitzer S, Zoehrer R et al. Collagen cross-linking influences osteoblastic differentiation. *Calcif Tissue Int* 2008; 82: 392-400.
- 71) Fernandes H, Dechering K, Van Someren E, Steeghs I, Apotheker M, Leusink A et al. The Role of Collagen Crosslinking in Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells and MC3T3-E1 Cells. *Tissue Eng Part A* 2009; 15: 3857-3867.
- 72) Matsuura T, Tokutomi K, Sasaki M, Katafuchi M, Mizumachi E, Sato H. Distinct characteristics of mandibular bone collagen relative to long bone collagen: relevance to clinical dentistry. *BioMed Res Int* 2014; 2014: 769414.
- 73) Viswanath B, Raghavan R, Gurao NP, Ramamurthy U, Ravishankar N. Mechanical properties of tricalcium phosphate single crystals grown by molten salt synthesis. *Acta Biomater* 2008; 4: 1448-1454.
- 74) Nakano T, Tabata Y, Umakoshi Y. Texture and Bone Reinforcement. In: *Encyclopedia of Materials, Science and Technology Updates*. Elsevier, Oxford, MS2061; 2005: p1-8.
- 75) 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: 533-544.
- 76) Iwata M, Matsunaga S, Morioka T, Nakano T, Abe S, Yoshinari M et al. Alignment of biological apa-

- tite crystallites in posterior cortical bone of human edentulous mandible. *J Hard Tissue Biol* 2015; 24: 235-240.
- 77) Ishimoto T, Nakano T, Yamamoto M, Tabata Y. Biomechanical evaluation of regenerating long bone by nanoindentation. *J Mater Sci Mater Med* 2011; 22: 969-976.
 - 78) Gregson CL, Hardcastle SA, Cooper C, Tobias JH. Friend or foe: high bone mineral density on routine bone density scanning, a review of causes and management. *Rheumatology (Oxford)* 2013; 52: 968-985.
 - 79) Riggs BL, Melton LJ. Bone turnover matters: the raloxifene treatment paradox of dramatic decreases in vertebral fractures without commensurate increases in bone density. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 11-14.
 - 80) Tuukkanen J, Koivukangas A, Jämsä T, Sundquist K, Mackay CA, Marks SC. Mineral density and bone strength are dissociated in long bones of rat osteopetrotic mutations. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 1905-1911.
 - 81) Watanabe Y, Takai S, Arai Y, Yoshino N, Hirasawa Y. Prediction of mechanical properties of healing fractures using acoustic emission. *J Orthop Res* 2001; 19: 548-553.
 - 82) Chakkalakal DA, Strates BS, Mashoof AA, Garvin KL, Novak JR, Fritz ED et al. Repair of segmental bone defects in the rat: an experimental model of human fracture healing. *Bone* 1999; 25: 321-332.
 - 83) Sekita A, Matsugaki A, Ishimoto T, Nakano T. Synchronous disruption of anisotropic arrangement of the osteocyte network and collagen/apatite in melanoma bone metastasis. *J Struct Biol* 2017; 193: 260-270.
 - 84) 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.
 - 85) Shinno Y, Ishimoto T, Saito M, Uemura R, Arino M, Marumo K et al. Comprehensive analyses of how tubule occlusion and advanced glycation end-products diminish strength of aged dentin. *Sci Rep* 2016; 6: 19849.
 - 86) Nakano T, Kaibara K, Ishimoto T, Tabata Y, Umakoshi Y. 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: 741-747.
 - 87) Shiraiishi A, Miyabe S, Nakano T, Umakoshi Y, Ito M, Mihara M. 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: 66.
 - 88) Iwasaki Y, Kazama JJ, Yamato H, Matsugaki A, Nakano T, Fukagawa M. Altered material properties are responsible for bone fragility in rats with chronic kidney injury. *Bone* 2015; 81: 247-254.
 - 89) Shimomura A, Matsui I, Hamano T, Ishimoto T, Katou Y, Takehana K. Dietary L-lysine prevents arterial calcification in adenine-induced uremic rats. *J Am Soc Nephrol* 2014; 25: 1954-1965.
 - 90) 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: 308-314.
 - 91) Ishimoto T, Sato B, Lee JW, Nakano T. Co-deteriorations of anisotropic extracellular matrix arrangement and intrinsic mechanical property in c-src deficient osteopetrotic mouse femur. *Bone* 2017; 103: 216-223.
 - 92) Lee JW, Nakano T, Toyosawa S, Tabata Y, Umakoshi Y. 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* 2007; 48: 337-342.
 - 93) Kashii M, Hashimoto J, Nakano T, Umakoshi Y, Yoshikawa H. Alendronate treatment promotes bone formation with a less anisotropic microstructure during intramembranous ossification in rats. *J Bone Miner Metab* 2008; 26: 24-33.
 - 94) Tanaka M, Matsugaki A, Ishimoto T, Nakano T. Evaluation of crystallographic orientation of biological apatite in vertebral cortical bone in ovariectomized cynomolgus monkeys treated with minodronic acid and alendronate. *J Bone Miner Metab* 2016; 34: 234-241.
 - 95) Nakano T, Netsu S, Ishimoto T, Shimomura A, Yamane H, Takao R, Y, Isoya. Intermittent teriparatide administration maintains preferential orientation of biological apatite at a sound level in cortex of ovariectomized monkey tibia. *Osteoporos Jpn* 2014; 22: 47-50.
 - 96) Noyama Y, Nakano T, Ishimoto T, Sakai T, Yoshikawa H. Design and optimization of the oriented groove on the hip implant surface to promote bone microstructure integrity. *Bone* 2013; 52: 659-667.
 - 97) Huiskes R, Weinans H, van Rietbergen B. The relationship between stress shielding and bone resorption around total hip stems and the effects of flexible materials. *Clin Orthop Relat Res* 1992; 274: 124-134.
 - 98) Noyama Y, Miura T, Ishimoto T, Itaya T, Niinomi M, Nakano T. Bone loss and reduced bone quality of the human femur after total hip arthroplasty under stress-shielding effects by titanium-based implant. *Mater Trans* 2012; 53: 565-570.
 - 99) Wang J, Ishimoto T, Nakano T. Unloading-Induced Degradation of the Anisotropic Arrangement of Collagen/Apatite in Rat Femurs. *Calcif Tissue Int* 2017; 100: 87-94.
 - 100) Ishimoto T, Yoshida Y, Nakano T. Quick recovery in preferential orientation of biological apatite and related mechanical function during bone regeneration by running exercise. *Japanese J Clin Biomech* 2012; 33: 47-54.
 - 101) Matsugaki A, Aramoto G, Nakano T. The alignment

- of MC3T3-E1 osteoblasts on steps of slip traces introduced by dislocation motion. *Biomaterials* 2012; 33: 7327-7335.
- 102) Matsugaki A, Nakano T. Control of cellular alignment by surface topography induced by plastic deformation. *Crystals* 2016; 6: 73.
- 103) Matsugaki A, Aramoto G, Ninomiya T, Sawada H, Hata S, 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: 134-143.
- 104) 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. *J Biomed Mater Res A* 2015; 103: 489-499.
- 105) Franz-Odenaal TA, Hall BK, Witten PE. Buried alive: how osteoblasts become osteocytes. *Dev Dyn* 2006; 235: 176-190.
- 106) van der Plas A, Nijweide PJ. Isolation and purification of osteocytes. *J Bone Miner Res* 1992; 7: 389-396.
- 107) Kato Y, Windle JJ, Koop BA, Mundy GR, Bonewald LF. Establishment of an osteocyte-like cell line, MLO-Y4. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 2014-2023.
- 108) Yang W, Harris MA, Heinrich JG, Guo D, Bonewald LF, Harris SE. Gene expression signatures of a fibroblastoid preosteoblast and cuboidal osteoblast cell model compared to the MLO-Y4 osteocyte cell model. *Bone* 2009; 44: 32-45.
- 109) Otto F, Thornell AP, Crompton T, Denzel A, Gilmour KC, Rosewell IR et al. *Cbfa1*, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. *Cell* 1997; 89: 765-771.
- 110) Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, Zhang Z, Deng JM, Behringer RR, de Crombrughe B. The novel zinc finger-containing transcription factor *osterix* is required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell* 2002; 108: 17-29.
- 111) Robison R, Soames KM. The Possible Significance of Hexosephosphoric Esters in Ossification: Part II. The Phosphoric Esterase of Ossifying Cartilage. *Biochem J* 1924; 18: 740-754.
- 112) Lynch MP, Stein JL, Stein GS, Lian JB. The influence of type I collagen on the development and maintenance of the osteoblast phenotype in primary and passaged rat calvarial osteoblasts: modification of expression of genes supporting cell growth, adhesion, and extracellular matrix mineralization. *Exp Cell Res* 1995; 216: 35-45.
- 113) Westbroek I, De Rooij KE, Nijweide PJ. Osteocyte-specific monoclonal antibody MAb OB7.3 is directed against *Phex* protein. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 845-853.
- 114) Petersen DN, Tkalcovic GT, Mansolf AL, Rivera-Gonzalez R, Brown TA. Identification of osteoblast/osteocyte factor 45 (OF45), a bone-specific cDNA encoding an RGD-containing protein that is highly expressed in osteoblasts and osteocytes. *J Biol Chem* 2000; 275: 36172-36180.
- 115) Zhang K, Barragan-Adjemian C, Ye L, et al. E11/gp38 selective expression in osteocytes: regulation by mechanical strain and role in dendrite elongation. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 4539-4552.
- 116) Toyosawa S, Shintani S, Fujiwara T, Ooshima T, Sato A, Ijuhin N et al. Dentin matrix protein 1 is predominantly expressed in chicken and rat osteocytes but not in osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 2017-2026.
- 117) Winkler DG, Sutherland MK, Geoghegan JC, Yu C, Hayes T, Skonier JE et al. Osteocyte control of bone formation via sclerostin, a novel BMP antagonist. *EMBO J* 2003; 22: 6267-6276.
- 118) Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y, Hasegawa H, Takeuchi Y, Fujita T et al. Targeted ablation of *Fgf23* demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest* 2004; 113: 561-568.
- 119) Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res* 2011; 26: 229-238.
- 120) Schaffler MB, Kennedy OD. Osteocyte signaling in bone. *Current osteoporosis reports* 2012; 10: 118-125.
- 121) Donahue HJ. Gap junctions and biophysical regulation of bone cell differentiation. *Bone* 2000; 26: 417-422.
- 122) Loiselle AE, Jiang JX, Donahue HJ. Gap junction and hemichannel functions in osteocytes. *Bone* 2013; 54: 205-212.
- 123) Su M, Borke JL, Donahue HJ, Li Z, Warshawsky NM, Russell CM, Lewis JE. Expression of connexin 43 in rat mandibular bone and periodontal ligament (PDL) cells during experimental tooth movement. *J Dent Res* 1997; 76: 1357-1366.
- 124) Thi MM, Kojima T, Cowin SC, Weinbaum S, Spray DC. Fluid shear stress remodels expression and function of junctional proteins in cultured bone cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; 284: C389-C403.
- 125) Sasaki M, Kuroshima S, Aoki Y, Inaba N, Sawase T. Ultrastructural alterations of osteocyte morphology via loaded implants in rabbit tibiae. *J Biomech* 2015; 48: 4130-4141.
- 126) Globus RK, Bikle DD, Morey-Holton E. Effects of simulated weightlessness on bone mineral metabolism. *Endocrinology* 1984; 114: 2264-2270.
- 127) Plotkin LI, Bellido T. Osteocytic signalling pathways as therapeutic targets for bone fragility. *Nat Rev Endocrinol* 2016; 12: 593-605.
- 128) Frost HM. A 2003 update of bone physiology and Wolff's Law for clinicians. *Angle Orthod* 2004; 74: 3-15.
- 129) Klein-Nulend J, Bakker AD, Bacabac RG, Vatsa A, Weinbaum S. Mechanosensation and transduction in osteocytes. *Bone* 2013; 54: 182-190.

- 130) Bonewald LF. Mechanosensation and Transduction in Osteocytes. *Bonekey Osteovision* 2006; 3: 7-15.
- 131) Cherian PP, Siller-Jackson AJ, Gu S, Wang X, Bonewald LF, Sprague E, Jiang JX. Mechanical strain opens connexin 43 hemichannels in osteocytes: a novel mechanism for the release of prostaglandin. *Mol Biol Cell* 2005; 16: 3100-3106.
- 132) Genetos DC, Kephart CJ, Zhang Y, Yellowley CE, Donahue HJ. Oscillating fluid flow activation of gap junction hemichannels induces ATP release from MLO-Y4 osteocytes. *J Cell Physiol* 2007; 212: 207-214.
- 133) Batra N, Riquelme MA, Burra S, Kar R, Gu S, Jiang JX. Direct regulation of osteocytic connexin 43 hemichannels through AKT kinase activated by mechanical stimulation. *J Biol Chem* 2014; 289: 10582-10591.
- 134) Bivi N, Pacheco-Costa R, Brun LR, Murphy TR, Farlow NR, Robling A et al. Absence of Cx43 selectively from osteocytes enhances responsiveness to mechanical force in mice. *J Orthop Res* 2013; 31: 1075-1081.
- 135) Grimston SK, Watkins MP, Brodt MD, Silva MJ, Civitelli R. Enhanced periosteal and endocortical responses to axial tibial compression loading in conditional connexin43 deficient mice. *PLoS One* 2012; 7: e44222.
- 136) Vatsa A, Breuls RG, Semeins CM, Salmon PL, Smit TH, Klein-Nulend J. Osteocyte morphology in fibula and calvaria --- is there a role for mechanosensing? *Bone* 2008; 43: 452-458.
- 137) Bacabac RG, Mizuno D, Schmidt CF, MacKintosh FC, Van Loon JJ, Klein-Nulend J et al. Round versus flat: bone cell morphology, elasticity, and mechanosensing. *J Biomech* 2008; 41: 1590-1598.
- 138) Qiu J, Baik AD, Lu XL, Hillman EM, Zhuang Z, Dong C et al. A noninvasive approach to determine viscoelastic properties of an individual adherent cell under fluid flow. *J Biomech* 2014; 47: 1537-1541.
- 139) Teti A, Zallone A. Do osteocytes contribute to bone mineral homeostasis? Osteocytic osteolysis revisited. *Bone* 2009; 44: 11-16.
- 140) Nguyen AM, Jacobs CR. Emerging role of primary cilia as mechanosensors in osteocytes. *Bone* 2013; 54: 196-204.
- 141) Kaku M, Komatsu Y. Functional Diversity of Ciliary Proteins in Bone Development and Disease. *Curr Osteoporos Rep* 2017; 15: 96-102.
- 142) Malone AM, Anderson CT, Tummala P, Kwon RY, Johnston TR, Stearns T, Jacobs CR. Primary cilia mediate mechanosensing in bone cells by a calcium-independent mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 13325-13330.
- 143) Xiao Z, Dallas M, Qiu N, Nicolella D, Cao L, Johnson M et al. Conditional deletion of Pkd1 in osteocytes disrupts skeletal mechanosensing in mice. *FASEB J* 2011; 25: 2418-2432.
- 144) Yoder BK, Hou X, Guay-Woodford LM. The polycystic kidney disease proteins, polycystin-1, polycystin-2, polaris, and cystin, are co-localized in renal cilia. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2508-2516.
- 145) Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1994; 843: 1-129.
- 146) Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J et al. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer* 2000; 88: 2961-2978.
- 147) Keller H, Kneissel M. SOST is a target gene for PTH in bone. *Bone* 2005; 37: 148-158.
- 148) Iida-Klein A, Hughes C, Lu SS, Moreno A, Shen V, Dempster DW et al. Effects of cyclic versus daily hPTH (1-34) regimens on bone strength in association with BMD, biochemical markers, and bone structure in mice. *J Bone Miner Res* 2006; 21: 274-282.
- 149) Schilcher J, Koeppen V, Aspenberg P, Michaëlsson K. Risk of atypical femoral fracture during and after bisphosphonate use. *N Engl J Med* 2014; 371: 974-976.
- 150) Kuroshima S, Kaku M, Matsuura T, Atsuta I, Ayukawa Y, Sawase T. Medication-related osteonecrosis of the jaw; what should we do as prosthodontists? *J Prosthodont Res* 2016; 60: 229-230.
- 151) Kaku M, Akiba Y, Akiyama K, Akita D, Nishimura M. Cell-based bone regeneration for alveolar ridge augmentation--cell source, endogenous cell recruitment and immunomodulatory function. *J Prosthodont Res* 2015; 59: 96-112.
- 152) Masaki C, Nakamoto T, Mukaibo T, Kondo Y, Hosokawa R. Strategies for alveolar ridge reconstruction and preservation for implant therapy. *J Prosthodont Res* 2015; 59: 220-228.
- 153) Nakano T, Ishimoto T, Ikeo N, Matsugaki A. 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. Springer; 2012: p155-167.
- 154) Kimura Y, Matsugaki A, Sekita A, Nakano T. Alteration of osteoblast arrangement via direct attack by cancer cells: New insights into bone metastasis. *Sci Rep* 2017; 7: 44824.

著者連絡先：黒嶋 伸一郎

〒 852-8588 長崎県長崎市坂本 1-7-1
 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科口腔インプラント学分野, 長崎大学病院口腔・顎・顔面インプラントセンター
 Tel: 095-819-7688
 Fax: 095-819-7689
 E-mail: kuroshima@nagasaki-u.ac.jp