

Title	No. 5 : PRF のラット骨髄細胞の初期形態変化, 増殖, 分化に対する影響
Author(s)	武田, 侑大; 國分, 克寿; 松坂, 賢一; 井上, 孝
Journal	歯科学報, 113(2): 199-199
URL	http://hdl.handle.net/10130/3064
Right	

No.5 : PRF のラット骨髓細胞の初期形態変化, 増殖, 分化に対する影響

武田侑大, 國分克寿, 松坂賢一, 井上 孝 (東歯大・臨検病理)

目的: Platelet rich fibrin (PRF) は血小板由来の多数の成長因子を含む完全自己血液由来のフィブリンゲルで, 再生医療への応用が期待されている。しかし PRF の骨組織再生に関する基礎的データは乏しい。そこで, 本研究では PRF の特徴および骨組織再生へ与える影響を明らかにすることを目的とした。

方法: SD 系雄性ラットから採取した全血液 5cc を供血遠心器 (メディフュージ) を用いて, PRF, fibrinized Platelet poor plasma (fPPP) を生成した。PRF および fPPP は, クライオスタットにて約 30 μ m の厚さで薄切し, 直径 13.5mm の cell disc 上にコートした。薄切された PRF と fPPP 表面の評価として, 走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察, 培養液中の TGF- β 1, PDGF-AB, IGF-1 を ELISA 法にて検索した。ラット大腿骨骨髓由来細胞を各試料上に播種し, 無血清培地 (α -MEM) を用いて培養した。細胞形態の観察は 1, 24 時間後に SEM および共焦点レーザー顕微鏡によって行った。細胞増殖活性測定として 1, 3, 5, 7, 14 日後に WST-1 assay を行った。骨芽細胞分化の指標として 3, 7, 14 日後

に ALP 活性測定および ALP 染色を行った。

成績: SEM 像において PRF 群のフィブリン網中に血小板が多数観察された。PRF 群は培養液中に TGF- β 1, PDGF-AB, IGF-1 が, fPPP 群は IGF-1 のみが検出され, non-coat 群ではいずれも検出されなかった。細胞形態の観察では, 1, 24 時間ともに PRF 群, fPPP 群は non-coat 群と比較して著しい細胞伸展が観察された。WST-1 assay では, PRF 群は全時点で他の 2 群と比較して高かった。ALP 活性および染色では, PRF 群は全時点で他の 2 群と比較して高かった。

考察: PRF 群, fPPP 群で顕著な細胞伸展がみられたことはフィブリンなどの足場形態によると考えられる。PRF 群において細胞増殖活性および ALP 活性が有意に高いのは, 血小板由来の TGF- β 1, PDGF-AB などの成長因子によるものと考えられた。以上より, PRF はフィブリンなどの足場形態および血小板由来の成長因子のため, ラット骨髓細胞の初期形態変化, 増殖, 骨芽細胞分化に有利に働くことが示唆された。

No.6 : 4-META/MMA-TBB レジン を軟組織表面に応用した際の創傷治癒における組織学的検索

木所 亮¹⁾, 松坂賢一²⁾, 武田侑大²⁾, 小林史卓²⁾, 井上健児²⁾, 橋本和彦²⁾, 片倉 朗¹⁾, 井上 孝²⁾
(東歯大・オーラルメディシン口外)¹⁾ (東歯大・臨検病理)²⁾

目的: 4-META/MMA-TBB レジン (以下, 4-META レジン) は歯科用接着剤として広く臨床の場で応用されている。また, 硬組織だけでなく軟組織への接着性および生体親和性が報告されており, 軟組織創面の保護としての報告がある。しかし, 4-META レジンの軟組織創面での上皮組織再生および結合組織に与える影響は報告されていない。本研究の目的は皮膚の創傷部に対する 4-META レジンの有用性を形態学的に検討することである。

方法: 6 週齢 Sprague-Dawley 系雄性ラットを用いた。全身麻酔下にて, 背部の剃毛後に生陰トレパン (ϕ 3mm) にて欠損を作製し, 止血確認後 4-META レジンにて創面を覆った。

術後 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14 日後に組織を採取した。創面に接着している 4-META レジンはアセトンにて溶解した後, 通法に従い組織切片を作製した。組織切片の評価は, HE 染色および, CD68 を一次抗体として用いた免疫組織化学的染色を行った。

結果: HE 染色においては, 術後 1 日目より 4-ME-

TA レジンが接していた創面の結合組織表面に無構造物質が認められた。術後 5 日目より無構造物質の解離と上皮の伸展が始まり, 術後 7 日目から 10 日目にかけて無構造物質が完全に消失し, 術後 14 日目に創面の治癒を認めた。免疫組織化学的染色では, 術後 2 日目より無構造物質に接する結合組織中に CD68 陽性細胞の出現を認め, 3 日目に著明な増加がみられた。術後 7 日にかけて無構造物質の消失と比例して減少が認められた。

考察: 欠損部位に生じた無構造物質は結合組織への化学的な接着としてハイブリッド層が形成されたことが考えられる。術後 5 日目から CD68 陽性細胞の増加によりハイブリッド層の減少が認められたことは, CD68 陽性細胞による貪食作用によるものと考えられる。それと同時に上皮の伸展が始まったことから, CD68 陽性細胞によるハイブリッド層の貪食部位に上皮が入り込んで伸展してきていることが考えられる。よって皮膚欠損部位に対して 4-META レジンにて創面を保護することは有用であると考えられる。