

Title	24 : ラジアルフロー型バイリアクターを用いたラット骨髄細胞の三次元培養
Author(s)	神田, 雄平; 西村, 逸郎; 宮井, 友理; 佐藤, 亨; 吉成, 正雄
Journal	歯科学報, 114(5): 513-513
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/3482">http://hdl.handle.net/10130/3482</a>
Right	

## No.23: 老人性骨粗鬆症モデルマウス(SAMP6)の骨髄細胞に対するフルバスタチンの影響

高橋由香里<sup>1)2)</sup>, 佐々木穂高<sup>1)2)</sup>, 吉成正雄<sup>1)</sup>, 矢島安朝<sup>2)</sup>(東歯大・口科研・口腔インプラント学研究部門)<sup>1)</sup> (東歯大・口腔インプラント)<sup>2)</sup>

**目的:** わが国は超高齢社会を迎えたことにより、インプラント診療を受ける患者も高齢化が進んでいる。現在のインプラント治療において高齢化に伴う有病率の増加は大きな問題であり、中でも老人性骨粗鬆症は、骨髄細胞から骨芽細胞への分化能が低下していることが報告されており、安全かつ確実なインプラント治療を確立していくために重要な課題となっている。一方、高脂血症治療薬のHMG-CoA還元酵素阻害薬であるスタチン系薬剤が、骨形成タンパク(BMP2)を発現させ、骨芽細胞の分化促進や骨粗鬆症患者への骨量増加に効果があることが示唆されている。しかしながら、スタチン系薬剤が老人性骨粗鬆症の骨治療過程に対してどのような影響を与えるかは知られていない。そこで本研究は、スタチン系薬剤であるフルバスタチンが老人性骨粗鬆症モデルマウス(SAMP6)の骨髄細胞に与える影響を明らかにすることを目的とした。

**方法:** 東京歯科大学動物実験倫理委員会の承認(承認番号263002号)を得た後、20週齢雄性の正常マウス(SAMR1)と老人性骨粗鬆症モデルマウス

(SAMP6)の大腿骨、脛骨より骨髄細胞を採取した。フルバスタチンを各濃度; 0 $\mu$ M (cont), 0.1 $\mu$ M, 0.5 $\mu$ M, 1.0 $\mu$ Mを添加し、骨髄細胞を培養した(n=5)。1, 3, 7, 14日目に、細胞増殖: WST1を、7, 14日目に細胞分化: アルカリフォスファターゼ活性を測定した。また免疫組織化学染色による評価を行った。

**結果:** WST1の結果はフルバスタチンの有無にかかわらず、濃度間の差は認められなかった。またアルカリフォスファターゼ活性では、7日目では差が認められなかったが、14日目ではSAMR1で0.1 $\mu$ M, SAMP6で0.5 $\mu$ Mのフルバスタチン添加時に有意に高い値が得られた。

**考察:** フルバスタチンは骨髄細胞の細胞増殖への影響は認められなかった。骨芽細胞への分化を促進する傾向がみられ、老人性骨粗鬆症モデルマウスでは至適濃度に差が認められた。これにより、フルバスタチンが老人性骨粗鬆症における骨治療を促進する可能性が示唆された。

## No.24: ラジアルフロー型バイオリクターを用いたラット骨髄細胞の三次元培養

神田雄平<sup>1)2)</sup>, 西村逸郎<sup>1)2)</sup>, 宮井友理<sup>2)</sup>, 佐藤 亨<sup>2)</sup>, 吉成正雄<sup>1)</sup> (東歯大・口科研)<sup>1)</sup>(東歯大・クラウンブリッジ補綴)<sup>2)</sup>

**目的:** 骨髄より抽出した細胞に骨分化因子を添加し培養すると骨細胞へと分化することが報告されている。また、*in vivo*における細胞-スキャフォールド複合体は骨再生において有効な手段であることが報告されている。我々は、ラジアルフロー型バイオリクター(RFB)を用いたマウス骨芽細胞様細胞の培養およびヒト骨髄由来間葉系幹細胞の培養で、スキャフォールド上に均一に増殖させることを報告している。しかし、RFBを用いてPrimary Cellの細胞を増殖させ骨再生を評価した報告はまだない。そこで本研究の目的は、RFBを用いてPrimary Cellのラット骨髄細胞を培養してその動態を検討することにより、本法が*in vivo*での応用に有効であるかを考察した。

**方法:** 雄性、SD系、6週齢のラットを屠殺し大腿骨、上腕骨、脛骨より骨髄細胞を採取した。初代培養のみ骨分化因子(デキサメタゾン $10^{-8}$ M,  $\beta$ -グリセロリン酸10mM, 50 $\mu$ g/mlアスコルビン酸)を添加したD-MEMにて培養し、2継代目まで骨分化因子を添加していないD-MEMにて培養した。その後タイプ1コラーゲンシート(気孔径70~110 $\mu$ m,

気孔率80~95%, 直径18mm, 厚さ3mm)に $5 \times 10^5$ 個の細胞を播種した。シートを6枚重ねてRFBに取り込み灌流培養を行った。培養条件は37 $^{\circ}$ C, pH 7.4, DO値6.86ppm, 培養液交換量100ml/day, 培養液灌流速度3ml/minに設定し、培地交換は培養開始後3日目から毎日とした。1週間後にスキャフォールドを回収しHE染色による形態観察と細胞数, ALP活性を評価した。コントロールとして培地灌流を行わずにプレート上で静置培養したものをを用いた。

**結果および考察:** RFBを用いてラット骨髄細胞を培養した結果、コントロールと比較して細胞数は有意に高い値を示した。また、H-E染色によりスキャフォールド上で高密度に細胞が分布していることが観察された。これは、栄養源の供給、老廃物の排出がRFBで効率よく行われたためと推察された。しかし、ALP活性に差は認められなかった。以上により、RFBによりスキャフォールド上にラット骨髄細胞を高密度に増殖させることが明らかとなり、RFBを用いた細胞-スキャフォールド複合体は*in vivo*での応用に有効である可能性が示唆された。