

論文内容の要旨

報告番号	空欄	氏名	谷掛洋平
Calcium Concentration in Culture Medium as a Nondestructive and Rapid Marker of Osteogenesis (和訳) 非破壊的で迅速に骨形成を評価できるマーカーとしての培養液中カルシウム濃度について			

論文内容の要旨

【目的】骨形成能を人工骨に付与するために骨形成能のある細胞を人工骨に導入した培養人工骨が臨床応用されているが、良好な骨形成を得るためには移植前に培養人工骨の骨形成能を評価することが重要であり、多くの骨形成マーカーの報告がある。しかし、実際に使用する培養人工骨を非破壊的にかつ迅速簡便に評価する骨形成マーカーの報告は我々の渉猟し得る範囲では認めなかった。本研究は、培養液中 Ca 濃度が移植後培養人工骨の骨形成能の簡便で迅速な骨形成マーカーとなるかを検討したものである。

【方法】7 週齢雄の Fischer 344 rat の大腿骨から骨髄を採取し、2 週間初期培養を行い mesenchymal stromal cell (MSC) を獲得し、継代培養を行い passage1~3 (P1~P3) の MSC を準備し、各 passage の MSC を、 10^6 cells/ml の浮遊液に調整し、 β -TCP-disk を浸漬させた後、骨誘導因子添加培養液で 2 週間の二次培養を行い、day3 から 2 日 (48 時間) ごとに培地を採取し、day15 で rat 皮下へ移植した。そして二次培養中に採取した培養液中の osteocalcin (以下 OC) と Ca の濃度を X 線蛍光分光計およびメチレンブルー法で測定し、各 passage における培養液中の OC と Ca の濃度の関係を分析した。また rat 皮下移植 4 週間後に培養人工骨を摘出し、 β -TCP-disk 内の OC 含有量と ALP 活性を測定し、培養液中 Ca 濃度との関係を分析した。

【結果】培養液中 Ca 濃度は、培養液中の OC 濃度と P1 で $r=-0.92$ 、P2 で $r=-0.95$ 、P3 で $r=-0.96$ と非常に強い負の相関を示し、培養液中 Ca 濃度の積算値も rat 皮下移植 4 週間時の培養人工骨の OC 含有量、ALP 活性とそれぞれ $r=0.90$ 、 $r=0.92$ と強い相関を示した。また培養液中 Ca 濃度は、X 線蛍光分光計での測定値とメチレンブルー法での測定値と $r=0.90$ と強い相関が示された。

【考察】本研究によって培養液中の Ca 濃度が、既知の骨形成マーカーである培養液中の分泌 OC 濃度と強く相関する事を確認し、移植後の人工骨の ALP 活性、OC 濃度とも強い相関を認めることが確認できた。また培養液中 Ca 濃度は、簡便なメチレンブルー法においても X 線蛍光分析法と強い相関が得られた。つまり、培養液中の Ca 濃度は簡便に測定することができるため、培養人工骨の移植後骨形成能を非破壊的で簡便に迅速に評価できることが示された。

【結論】培養液中 Ca 濃度は、移植後の骨形成能と非常に高い相関が示され、測定も簡便で培養人工骨の骨形成能評価に有用である。