

**P-5** 4',6-diamidino-2-phenylindole をプローブとしたヒト血小板に含まれるポリリン酸の細胞化学的蛍光観察法と蛍光定量法の最適化

Fluorometric quantification of human platelet polyphosphate using 4',6-diamidine-2-phenylindole dihydrochloride

○佐藤 篤<sup>1)</sup>, 渡辺 泰典<sup>1)</sup>, 北村 豊<sup>1)</sup>, 磯邊 和重<sup>1)</sup>, 川端 秀男<sup>1)</sup>, 増木 英郎<sup>1)</sup>, 上松 隆司<sup>1)</sup>, 川瀬 知之<sup>2)</sup>  
○Sato A<sup>1)</sup>, Watanabe T<sup>1)</sup>, Kitamura Y<sup>1)</sup>, Isobe K<sup>1)</sup>, Kawabata H<sup>1)</sup>, Masuki H<sup>1)</sup>, Uematsu T<sup>1)</sup>, Kawase T<sup>2)</sup>

1) 東京形成歯科研究会

2) 新潟大学大学院歯科薬理学分野

1) Tokyo Plastic Dental Society

2) Division of Dental Pharmacology Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

**I 目的:** 多血小板血漿 (PRP) は広く軟組織・硬組織の再生治療に適用されているが, 骨再生への有効性はしばしば疑問視されてきた。従来の増殖因子だけでは説明できない機構が働いている可能性がある。本研究では, その制御分子として第三の polyanion といわれるポリリン酸 (polyP) に着目し, 定性的蛍光観察法の最適化を試みた。あわせて蛍光定量法についても検討した。

**II 材料および方法:** 健康なドナーから採取した血液から 2 回遠心法にて血小板の PBS 懸濁液を調製した。血小板はサイトスピンドスライドガラスにマウントし, 様々な条件下で固定後に緩衝液中で 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) と反応させ, BV-2A キューブ (Ex: 420nm, DM: 455nm, Em: 460nm ~) を装填した蛍光顕微鏡にて観察した。また, その補完のため, 蛍光光度計 (Ex: 425nm, Em: 525nm) にて血小板懸濁液中の polyP を蛍光光度計にて定量した。

**III 結果:** 蛍光観察に関しては, ホルマリンによる固定を 8 時間以上実施することで, 再現性よく血小板上に顆粒状

の DAPI 結合物質 (≡ polyP) を認めた。また 0.1% CaCl<sub>2</sub> で活性化した場合, 血小板は凝集するとともに顆粒状の polyP は極度に減少した。同様に活性化した血小板を蛍光光度計で定量すると, 上記の可視化データを裏付けるように, 約 30% の蛍光強度の低下を認めた。

**IV 考察および結論:** polyP は血小板の細胞質と表面に局在しており, 後者は繰り返しの洗浄や強く頻繁なピベッティングあるいは不十分な固定で失われやすい。われわれは, 必要最小限の攪拌とホルマリンによる 8 時間以上の固定を推奨する。一方, 蛍光定量において, ホルマリンやリン酸緩衝液はバックグラウンドを上げるので, 固定液として Thrombofix, 固定細胞の懸濁には MilliQ 水を使用することで, データの再現性を上げることができる。DAPI は 360nm/460nm (Ex/Em) で DNA の検出に汎用されるが, polyP の可視化には 425/525nm 近辺の波長が最適であった。これまで, polyP の定量や動態の追跡が困難だったことが機能研究の遅延を招いていたが, 本研究によって, polyP の PRP 再生活性への関与を検討する道が開かれた。

**P-6** ソケットリフト時の残存骨量・インプラント体形状の差異によるインプラント埋入時の初期固定の基礎的検討

Basic study on the initial fixation of implants at the time of socket lift due to the difference of residual bone volume

○吉野 剛史, 児玉 利朗, 大井手 良光

○Yoshino T, Kodama T, Oide Y

神奈川歯科大学歯科インプラント学講座高度先進インプラント歯周病学分野

Department of Implantology and Periodontology, Kanagawa Dental University

**I 目的:** 上顎臼歯部は上顎洞の形態によって骨量不足の頻発する部位であり, 歯槽頂から上顎洞底までの骨高径が短い場合に, インプラント埋入手術を行うために骨造成法として上顎洞底挙上術が必要となってくる。しかし, 上顎洞底挙上術を実施する際の骨高径の適応基準は, これまでの報告や学会のガイドライン等で異なっているのが現状であり, 明確な指標は得られていない。そこで本研究では, 上顎洞底挙上術 (ソケットリフト) を想定して, 残存骨量・インプラント体形状の差異によるインプラント体の初期固定に与える影響を埋入トルク・埋入後の Implant stability quotient (以下 ISQ 値) について海绵骨セル型ブロックを使用して基礎的な検討を行なった。

**II 材料および方法:** インプラント体は, OsseoSpeed<sup>®</sup>EV, φ 4.2-11mm Stright implant, OsseoSpeed<sup>®</sup>EV, φ 4.2-11mm Conical implant (Astra Tech Implant System<sup>®</sup> EV, Dentsply Sirona) の 2 種類を使用した。埋入窩形成術式は, 2 種類ともに通常形成法を用いて Stright Type (以下術式 S) は A ドリル, Conical Type (以下術式 C) は A/B ドリルの追加形成を行なった。インプラント体の埋入窩は海绵骨セル型ブロック (SAWBONES<sup>®</sup> 20pcf, 厚さ 40mm, 20pcf, 標準的な骨の硬さを想定) を使用し, 上顎洞までの残存骨量として厚さ 3, 4, 5, 6mm サイズに設定し, インプラント

窩の形成を実施した。以上の方法で 2 種類のインプラント体, ブロックの厚さごとに 10 本ずつ埋入した。インプラント体埋入後に埋入トルク, ISQ 値, 除去トルクを測定した。各サイズでの術式 S 対 C (①), また各術式での各サイズ間 (②) の比較検討を行なった。得られたデータは ① Mann-Whitney U 検定, ② Kruskal-Wallis 検定にて統計処理を行なった。

**III 結果:** 埋入トルクは術式 S 対 C で 3, 5, 6mm 群, 術式 S での各ブロックサイズで 3mm, 4mm 間, 3mm, 6mm 間で有意差を認めた。術式 C で全ての群間で有意差を認めなかった。ISQ 値は術式 S 対 C で 3mm 群, 術式 S では全ての群間, 術式 C では 5mm, 6mm 間以外全ての群間で有意差を認めた。除去トルクは術式 S 対 C で 4, 5mm 群, 術式 S で 3mm, 4mm 間 3mm, 5mm 間 3mm, 6mm 間, 術式 C で 3mm, 6mm 間のみ有意差を認めた。

**IV 考察および結論:** 埋入トルクより術式 S・C 間の結果, インプラント体形状として Conica 形状 (術式 C) がより初期固定を獲得できることが示唆された。また, これまでの報告より ISQ 値 40 以下の場合に良好な初期固定が得られないとされ, 本研究の結果では 5mm 以上の場合に初期固定の安定性が得られることが明らかとなった。以上より埋入するインプラント体の長さの 45% 以上の骨の接触面積が必要であることが示唆された。