

O-1-4-5

rhBMP-2は生理的な骨・骨髄組織を異所性に誘導する

○土佐 郁恵¹⁾, 大野 充昭^{2,3)}, 北川 若奈^{1,2)}, 石橋 啓^{2,3)},
大橋 俊孝²⁾, 窪木 拓男^{1,3)}

¹⁾ 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科インプラント再生補綴学分野, ²⁾ 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科分子医化学分野, ³⁾ 岡山大学病院歯科・口腔インプラント科部門

rhBMP-2-induced ectopic bone includes physiological bone marrow which has hematopoietic function

○TOSA I¹⁾, ONO M^{2,3)}, KITAGAWA W^{1,2)},
ISHIBASHI K^{2,3)}, OOHASHI T²⁾, KUBOKI T^{1,3)}

¹⁾ Department of Oral Rehabilitation and Regenerative Medicine, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,

²⁾ Department of Molecular Biology and Biochemistry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, ³⁾ Department of Oral Rehabilitation and Implantology, Okayama University Hospital

I 目的: 近年, ヒト遺伝子組換えBMP-2 (rhBMP-2) の臨床応用が進み, 本邦でも顎骨再生療法への適応に向けた医師主導型治療が開始された。一方, インプラント体と再生骨の境界は常に感染のリスクに晒されるため, 再生骨には, インプラント体を力学的に支持するのみでなく, 生理的な免疫機能を提供することが求められている。免疫を司る血球細胞は, 骨髄において造血幹細胞(HSC)より分化するが, その分化・維持に必要な環境(骨髄ニッチ)は, 骨髄間葉系幹細胞としても知られるCxcl12 Abundant Reticular (CAR) 細胞が形成している。本研究では, rhBMP-2により形成された骨(BMP-2誘導骨)が骨髄ニッチを有し血球細胞を産生できるか, つまり生理的な骨髄を有しているかを検討した。

II 材料および方法: 野生型マウスおよびCxcl12-GFPマウス(CAR細胞を可視化)の背部皮下に, rhBMP-2/ β -TCP複合体を移植した。4週後に形成されたBMP-2誘導骨を回収し, 組織学的解析, フローサイトメトリー(FCM)解析, single cell RNA-sequence (scRNA-seq) 解析により, BMP-2誘導骨の細胞構成を長管骨骨髄と比較した。次に, BMP-2誘導骨が造血機能を有しているか検討するため, 放射線を照射した野生型マウスに, 全身GFPマウスで作製したBMP-2誘導骨由来細胞を経静脈移植し, 生存分析, FCM解析を行った。最後に, BMP-2誘導骨が骨髄ニッチを有しているか検討するため, BMP-2誘導骨を作製した野生型マウスに放射線照射を行い, 血球細胞がCD45.1で標識されたLy5.1マウスの長管骨骨髄細胞を経静脈移植し, BMP-2誘導骨より採取した細胞のFCM解析を行った。

III 結果: BMP-2誘導骨は形態学的に骨髄と類似した構造を呈し, 骨芽・破骨細胞, 骨膜, 血管に加え, 骨髄に特徴的なHSC, CAR細胞, 免疫反応に重要なマクロファージ等の血球細胞を含んでいた。scRNA-seq解析の結果, これらの細胞は, 長管骨骨髄のものと分子生物学的に酷似していた。放射線照射を受けた野生型マウスの生存率は, BMP-2誘導骨由来細胞移植により0%から100%に改善し, 末梢血および骨髄の血球細胞はほぼ全てドナー由来のGFP陽性細胞に置換された。放射線照射を受けたBMP-2誘導骨には, 長管骨骨髄同様ドナー由来のCD45.1陽性HSCの着生を認めた。

IV 考察および結論: rhBMP-2は, 骨髄ニッチを有した形態学的にも機能的にも生理的な骨・骨髄組織を異所性に誘導する。

(動物実験委員会承認 承認番号OKU-2020818号)

O-1-4-6

メトホルミン服用患者における多血小板フィブリン調製の不具合の可能性: in vitroにおける再現と作用機序の検討

○増木 英郎¹⁾, 上松 隆司¹⁾, 渡辺 泰典¹⁾, 中村 雅之¹⁾,
川端 秀男¹⁾, 北村 豊¹⁾, 渡辺 孝夫¹⁾, 川瀬 知之²⁾

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

Metformin-suppressed platelet's function in vitro: possible relation to delayed or failure of platelet-rich fibrin preparation

○MASUKI H¹⁾, UEMATSU T¹⁾, WATANABE T¹⁾,
NAKAMURA M¹⁾, KAWABATA H¹⁾, KITAMURA Y¹⁾,
WATANABE T¹⁾, KAWASE T²⁾

¹⁾ Tokyo Plastic Dental Society, ²⁾ Niigata University

I 目的: 抗凝固剤や凝固因子が不要なことから, 技術的簡便さから多血小板フィブリン(PRF)は, 再生療法の有用な生体材料として広く受け入れられている。しかし, 抗血小板薬等いくつかの薬剤を除いて, ある種の有病者から採血してPRFを調製しようとする場合, フィブリンクロットができにくいことがあるという事実はほとんど知られていない。そのひとつがメトホルミン治療を受けている2型糖尿病患者である。本研究では, メトホルミンとPRF形成不全の因果関係を検証する目的から, 健康なドナーから採取した血小板を用いたin vitroの実験系を構築し, メトホルミンの凝固能に及ぼす影響を検討した。

II 材料および方法: 健康な男性ドナー(n=9~15, 年齢: 26-80歳)からクエン酸-デキストロース溶液存在下で採血し, アシドーシスの影響を最小限とするため全血ではなく, 赤血球と白血球を含む多血小板血漿(L-PRP)を調製した。マイクロチューブ中でメトホルミン(1~10 mM)処理したL-PRPは室温で72時間まで断続的に攪拌しながらインキュベートした。凝固活性については, modified prothrombin time (mPT)およびactivated partial thromboplastin time (APTT)により評価した。血小板機能については, ADPにより誘導される接着活性および凝集活性の亢進を評価した。これらの運動機能を支える血小板内ATPレベルについては発光法により定量した。

III 結果: 分析されたパラメーターの中で, APTTが最も感度が高く, 時間および濃度に依存して1~10 mMの範囲で大幅に延長された。mPT, 血小板接着活性, および凝集活性は, 比較的高濃度のメトホルミン(5~10 mM)によって延長または抑制された。しかし, 市販のプール血漿はメトホルミンの影響を受けなかった。

IV 考察および結論: メトホルミンは血小板の機能を抑制することによりフィブリンクロットの形成を妨げる可能性が示唆された。わが国の糖尿病患者のなかでメトホルミンにより治療を受けている患者数は決して多くはなく, また同様の現象がみられるのは個体差によるところが大きいと認識している。しかし, 現場での急な治療方針の変更にも余裕を持って対応できるよう, このような「有害事象」を収集し共有できるようなシステム作りが期待される。

(倫理審査委員会番号15000140承認 承認番号2021-0126号)