

O-2-36 尾部懸垂マウスへ埋入したインプラントが周囲骨に与える影響

Influence of implant placed in mouse femur upon hindlimb suspension

○大津 雄人^{1,3)}, 松永 智^{2,3)}, 中島 孝輔^{1,3)}, 古川 丈博^{1,3)}, 阿部 伸一^{2,3)}, 矢島 安朝^{1,3)}

○OTSU Y, MATSUNAGA S, NAKAJIMA K, FURUKAWA T, ABE S, YAJIMA Y

¹⁾ 東京歯科大学口腔インプラント学講座, ²⁾ 東京歯科大学解剖学講座, ³⁾ 東京歯科大学口腔科学研究センター

¹⁾ Department of Oral and Maxillofacial Implantology, Tokyo Dental College, ²⁾ Department of Anatomy, Tokyo Dental College

³⁾ Oral Health Science Center, Tokyo Dental College

I 目的: 近年, メカニカルストレスに対する骨強度の評価として骨質が加えられ, その中でも特に生体アパタイト (BAP) 結晶配向性が注目されている。BAP 結晶は, 主としてコラーゲン線維に沿ってc軸配向し, 骨の力学的特性に深く関与している。BAP 結晶配向性は部位依存性が高く, 骨密度よりも局所応力に敏感に反応する。本研究では, インプラント埋入が周囲皮質骨へ与える影響の一端を解明することを目的として, 尾部懸垂によるマウス大腿骨にインプラント埋入を行い, インプラント周囲骨のBAP 結晶配向性及びコラーゲン線維走行異方性を評価した。

II 材料および方法: 試料は, 12週齢雄性のC57BL/6NCrSLcマウスを用いた。1週間の予備飼育後, マウスの尾を上方に牽引して前肢のみ接地させ, 尾部懸垂飼育を3週間行った。その後, 大腿骨骨幹中央部に直径0.8mm長さ1mmのチタン合金製インプラントを埋入し, 3週間後に屠殺して大腿骨の試料を得た。関心領域は中央骨幹部におけるインプラント周囲皮質骨とした。インプラント体中央部において大腿骨の水平断を行い, 100 μ mの非脱灰研磨標本を作製した。微小領域エックス線回折装置 (RINTRAPID-CMF, Rigaku) を用いて回折強度比を算

出することで, BAP 結晶配向性の定量評価を行なった。また, 共焦点レーザースキャン顕微鏡 (LSM880 Airy NLO, ZEISS) を用い, 第二高調波発生 (SHG) イメージングを用いてコラーゲン線維走行を観察した。

III 結果: 尾部懸垂飼育マウス皮質骨では通常飼育マウスと比較して, 大腿骨長軸に沿ったBAP 結晶の1軸優先配向性の低下が認められた。さらに, 大腿骨皮質骨では長軸方向への骨質配向が認められるが, インプラント周囲皮質骨では配向性が変化し, 異なるマイクロ/ナノ構造特性が確認された。

IV 考察および結論: 大腿骨長軸方向への1軸配向性が低下したことは, 尾部懸垂による脱負荷によるものであり, ヒト下顎骨の抜歯による歯槽骨吸収にともなう骨質変化に近似している。この大腿骨に埋入されたインプラント周囲骨は, 通常飼育マウス大腿骨に埋入されたインプラント周囲骨とは異なる構造特性を示したことから, インプラントを介して加わる荷重と周囲顎骨の変遷を評価するためのモデルとして有用である可能性が示唆された。(動物実験倫理委員会承認 承認番号 193303号)

O-2-37 多血小板血漿の品質管理法の開発: 分光光度計を用いた簡便な血小板凝集活性評価

Spectrophotometric determination of the aggregation activity of platelets in platelet-rich plasma for better quality control

○山口 貞博¹⁾, 増木 英郎¹⁾, 辻野 哲弘¹⁾, 磯邊 和重¹⁾, 渡辺 泰典¹⁾, 岡 吉孝¹⁾, 奥寺 元¹⁾, 川瀬 知之²⁾

○YAMAGUCHI S¹⁾, MASUKI H¹⁾, TSUJINO T¹⁾, ISOBE K¹⁾, WATANAWBE T¹⁾, OKA Y¹⁾, OKUDERA H¹⁾, KAWASE T²⁾

¹⁾ 一般社団法人東京形成歯科研究会, ²⁾ 新潟大学大学院薬理学分野

¹⁾ Tokyo Plastic Dental Society, ²⁾ Division of Oral Bioengineering, Institute of Medicine and Dentistry, Niigata University

I 目的: Platelet-rich Plasma (PRP) は広く再生医学分野で応用されているが, 特に骨組織を含む口腔再生治療において, その評価が分かっている。このような予知性が低い現状を改善し, より高い治療効果を実現するためには, まず調製方法の標準化が求められる。しかし, これだけでは個々のPRPの質的保証はできない。我々は, 先行する研究で, PRP中の血小板数を簡便に測定する方法を開発した。本研究では, 同様に分光光度計を用いて, 血小板の凝集活性を簡便に評価する方法を開発したので報告する。

II 材料および方法: PRPは健康なドナーの血液サンプルから, 2回遠心法で調製し, 最終的にリン酸緩衝液 (PBS) 中に懸濁した。血小板懸濁液は10 mM Adenosine diphosphate (ADP) にて刺激し, 分光光度計 (615 nm) にて測定した光透過度を血小板凝集の指標とした。また, この方法の妥当性を評価するために, 抗血小板剤 (Aspirin) あるいは酸化ストレス誘導剤 (H₂O₂) にて処理した血小板を対照として同様の実験を行った。

III 結果: ADP 刺激により10-15%の光透過度の減少が認められたが, 血小板濃度としては50-100 $\times 10^4/\mu$ L, アッセイ用緩

衝液としてはPBS, 凝集測定のエンドポイントとしては刺激3分後が最適であると判明した。なお, 血漿に懸濁した場合, 凝集程度とデータの再現性という点で劣っていた。また, 機能的に抑制された, あるいは傷害された血小板の場合, 光透過度の減少は明確に (50%程度) 抑制された。

IV 考察および結論: われわれが開発した血小板凝集能評価法は, 操作が簡便なうえに実用に耐えることが確認された。この評価法を先に報告した血小板数評価法と同時に実施することで, 短時間のうちにPRPの品質をより高い精度で評価できる可能性が示唆された。特に, PRPの調製は技術力が低いと多くの血小板を不必要に活性化し, 凝集や増殖因子レベルの低下を招く可能性があることを考えると, 本法は調製技術の向上にも役立てることが期待される。

(倫理審査委員会番号 15000140 承認 承認番号 2297号)