

D18 リン酸イオンおよびケイ酸イオンが骨芽細胞様細胞の石灰化

過程に及ぼす影響

(名古屋工業大学大学院) ○後藤大和 ・ 古屋陸 ・ 小幡亜希子 ・ 春日敏宏

E-mail : obata.akiko@nitech.ac.jp

【緒言】 骨欠損部に埋入する材料として、Ca-P 系および Ca-Si 系セラミックス・ガラス材料が一般的に用いられる。これらの材料が骨形成を促進する要因の一つに、溶出するイオンによる影響が挙げられる。Ca-P 系および Ca-Si 系の材料から溶出するイオンにはリン酸(P)、ケイ酸(Si) およびカルシウム(Ca)イオンが存在するが、特に材料間で異なる P イオンと Si イオンがそれぞれ骨形成に対してどのように寄与しているか興味深い。Si イオンが骨芽細胞の石灰化過程に及ぼす影響について、他のイオン等による影響を除いた条件下で調査した報告が数多く存在する一方、P イオンに関する同様な報告は皆無である。そこで、本研究では P および Si イオンを添加した培養培地を用いて同一条件下で細胞応答を比較する事で、P イオンが骨芽細胞に及ぼす影響を明確化し、さらに両イオン間で影響に違いがあるか検討する事を目的とした。

【実験方法】 P および Si イオン源として Na_2HPO_4 , $\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ を通常培地 (McCoy's 5A, 10% FBS, 1% penicillin/streptomycin) に所定濃度となるようにそれぞれ添加し、各イオン添加培地を作製した (x -P, y -Si, $x, y = 10 \sim 300$ ppm)。通常培地を用いてヒト骨肉腫由来骨芽細胞様細胞 (SaOS-2) の懸濁液を濃度 1.0×10^5 cells/ml で作製し、24 または 96 ウェルプレートに播種した後、各イオン添加培地で所定期間 (1~35 d) 培養を行った。石灰化能評価のため生細胞数およびカルシウム沈着量を測定し、XRD および SEM-EDS にて石灰化質の解析を行った。

【結果】 30~300 ppm の P イオンおよび 100 ppm の Si イオンを用いて培養を行った際、通常培地を用いた場合と比較して有意に高いカルシウム沈着量を示した。また、XRD および SEM-EDS を用いて石灰化質の組成分析を行ったところ、P および Si のサンプルでは骨の主成分であるハイドロキシアパタイトの形成を確認した一方で、通常培地では同様な物質は確認されなかった。この結果から、P イオンおよび Si イオンは特定の濃度域において骨形成を促進することが明らかになった。P イオンは細胞由来のリン酸カルシウムの結晶形成に寄与するタンパク質である Glvr-1 および Glvr-2 の発現を促進することが報告されており¹⁾、本研究でも同様な促進効果が発現した可能性が考えられる。

1) Y. Wittrant, *et al.*, "Inorganic phosphate regulates Glvr-1 and -2 expression: Role of calcium and ERK1/2", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 381, 259-263 (2009).