

P-27 in vitroにおけるラット骨髄stromal cellを用いた骨形成モデルの作製

奈良県立医科大学

佐道俊幸, 斎藤 滋, 森川 肇

〔目的〕近年、閉経後の低エストロゲン状態が骨量減少の原因として注目されているが、詳細な機序は不明である。今回我々はラット骨髄stromal cellを用いてosteoblast様細胞の発生、分化、及びこれらに対する E_2 の影響をin vitroで検討した。

〔方法〕生後7週のラット大腿骨より骨髄細胞を採取し、15%FCS加MEM 培地にて1週間培養後トリプシン処理を行った。その後、培養系のMEM 培地に β -glycerophosphate(10mM), Vitamin C (82 μ g/ml), Dexamethasone(Dex, 10^{-8} M)を添加した。ついで、同培地に15%FCS(無処理群)、15%charcoal処理FCS(cFCS)(処理群)、あるいは15%cFCS+ 10^{-7} ME $_2$ (E $_2$ 群)をそれぞれ添加し14日間培養した。7日目に細胞数、14日目にcolony数を算定し、さらにalkalin phosphatase(ALP)染色を行った。

〔成績〕1)無処置群でDex を添加すると10日目に大型のosteoblast様細胞のcolonyが出現し、14日目にはカルシウムの沈着がみられ、かつALP 陽性であり、骨が形成されたが、Dex 非添加では骨は形成されなかったので実験系では全てDex を添加した。2)細胞数($\times 10^4$ cells/ml)は無処理群で 42.2 ± 4.1 、処理群で 36.2 ± 5.4 、E $_2$ 群で 37.0 ± 4.8 と各群間で差を認めなかった。3)ステロイドホルモンを除去した処理群では骨形成colony数(個/well)は無処理群の 13.8 ± 2.8 (n=6)に比して 4.0 ± 1.1 (n=6)と有意に(P<0.05)減少した。4)E $_2$ 群では骨形成colony数は 11.3 ± 1.6 (n=6)と処理群に比して有意(P<0.05)に増加した。(結論)in vitroで骨髄stromal cellより骨に分化するsystemを確立した。本法を用いることによりE $_2$ が骨分化に重要な役割をはたすことが直接証明された。

P-28 更年期女性の骨代謝と末梢血中サイトカイン動態

北海道大

藤野敬史, 古田伊都子, 八重樫 稔, 白銀 透, 牧野田 知, 藤本征一郎

〔目的〕骨代謝と末梢血中でのサイトカイン(CK)動態との関係は未だ明らかではない。代表的な骨代謝関連CKとされるIL-1, IL-6, TNF α や増殖因子TGF β 1の血中濃度と骨代謝との関連,ならびにホルモン補充療法(HRT)とこれらのCK動態との関連を明らかにすることを目的とした。

〔方法〕本研究に同意を得た対象は、骨に対する既往治療ならびに炎症などの合併症のない1995年2月から8月までの期間の患者33例(45-59歳)である。骨塩量はDEXA法(Hologic QDR-2000)にて測定し、血清IL-1 β , IL-6, TNF α , TGF β 1ならびに骨代謝マーカーとして尿中デオキシピリジノリン(DP), 血清オステオカルシン(OC)をそれぞれELISA法にて測定し、骨塩量ならびに骨代謝マーカー濃度と各CK濃度との相関を検討した。HRT(結合型エストロゲン0.625mg+MPA 2.5mg/日の連続投与)を施行し、HRT開始前と3ヶ月以後に同様の測定を行った。有意差検定はWilcoxon signed rank testにて行った。

〔成績〕TNF α は骨塩量と負の相関(R=0.53, P<0.05)を示したが、IL-1 β , IL-6, TGF β 1は一定の傾向を示さなかった。TNF α , IL-6はDPと正の相関(R=0.60, R=0.68, P<0.01)を示したが、IL-1 β , TGF β 1ではDPとの相関は認められなかった。またTNF α , IL-6はOCと正の相関(R=0.51, R=0.50, P<0.05)が認められたが、IL-1 β , TGF β 1とOCとの相関は認められなかった。HRT施行前後の比較では、OCは治療前と比べ有意(p<0.05)に低下し、DP, IL-6, TNF α では低下する傾向が認められた。

〔結論〕血中IL-6, TNF α はDP, OCと相関が認められ、かつHRTにより低下する傾向にあることから、これらのCKは骨代謝回転を反映していることが初めて示唆された。