

375 ヒト海綿骨由来骨芽細胞の骨形成能
に及ぼすエストロゲンの影響

高知医大, 同歯科口腔外科*
森岡信之, 小栗啓義, 前田長正, 若槻明彦,
相良祐輔, 尾崎登喜雄*

〔目的〕我々はすでにヒト海綿骨骨芽細胞培養系を用いて17 β estradiol (E2) が骨芽細胞の増殖能を増強させることを報告してきた。今回は骨芽細胞の骨形成能に及ぼすE2の生理学的効果を解析することを目的とした。〔方法〕ヒト海綿骨骨芽細胞の初代培養株を実験に供した。5 \times 10⁴個の骨芽細胞にE2を添加後培養し、細胞の骨形成能パラメーターとしてAlkaline phosphatase(ALP)活性、Pro-collagen Type I(PIP)、Osteocalcin(BGP)を経時的に測定した。ALP活性はBessey-Lowry法を用い、PIP、BGPは、同一細胞の培養上清をELISA法を用いて測定した。〔成績〕1) ALP活性：E2非添加群に比較し、E2添加群では濃度依存的な活性の増強を認め、1000pg/mlをpeakとし、それ以上の濃度では活性は抑制された。経時的には、培養開始後day 3より活性の増強を認めday 6をpeakとして以後活性は低下した。2) PIP及びBGP：E2 50pg/ml添加群は非添加群に比較し分泌能に有意差を認めなかったが、E2 1000pg/ml添加群では有意の増加を認めた。経時的にはday 3にpeakを認め以後低下した。マウス胎仔頭蓋骨由来骨芽細胞株MC3T3E1細胞を用いた検討でも、ALP、PIP、BGPのいずれも同一の成績であった。〔結論〕ヒト海綿骨骨芽細胞の骨形成能はE2の添加により増強し、E2は骨芽細胞の増殖能のみならず骨形成能にも関与することを明らかにした。E2による骨形成能の増強効果はALP活性では濃度依存的であるのに対し、PIP、BGP分泌能には一定の閾値が存在し、その作用機構に違いのあることを明らかにした。今回の検討成績から、低エストロゲン環境が骨芽細胞の増殖能低下のみならず骨形成能低下にも関与していることが強く示唆された。

376 ヒト海綿骨骨芽細胞における核内
エストロゲンレセプターの証明とその基礎的検討

高知医大, 同歯科口腔外科*
板東 尚, 福永寿則, 前田長正, 相良祐輔,
尾崎登喜雄*

〔目的〕骨粗鬆症の治療に有効と考えられているestrogen(E)の作用機序は未だ不明の点が多い。今回、Eの生物学的効果と密接に関係する核内E receptor(ER)の検討を、マウス胎仔由来の頭蓋骨MC3T3E1骨芽細胞を用いて行った。この検討に基づいてヒト海綿骨骨芽細胞核内ERの測定を、同意を得て行った。〔方法〕1) 核内ER測定至適条件設定のため、³H-estradiol, 非標識のDESを用いて、0 $^{\circ}$ C, 20 $^{\circ}$ C, 37 $^{\circ}$ Cで24時間インキュベートし、経時的に特異的結合能を測定した。2) Scatchard分析で核内ER測定のための至適核分画濃度を検討した。3) 各種濃度のDES, estrone(E1), estradiol(E2), estriol(E3), cortisol(C), progesterone(P), testosterone(T)による核内ERの競合性を比較した。4) 検討した至適条件を用いて、ヒト海綿骨骨芽細胞核内ERの測定を行った。〔成績〕1) インキュベーション温度および時間の検討では、0 $^{\circ}$ C, 14時間で最も核内ERとの特異的結合能は高く、測定のための至適条件として、温度は0 $^{\circ}$ C, 時間は14時間とした。2) 核分画濃度は15から60 μ gDNA/mlの間で測定可能であった。3) 核内ERに結合した³H-E2に対する各種steroidの競合性はDES, E1, E2, E3に対して強く競合し、C, P, Tに対しては全く競合しなかった。4) ヒト海綿骨の核内ERを測定した結果、最大結合部位数は6.93 \pm 6.65fmol/ μ gDNA、解離定数は0.45 \pm 0.08 nMであった。〔結論〕MC3T3E1の核内ER測定至適条件は、0 $^{\circ}$ C, 14時間、核分画濃度は15から60 μ gDNA/mlであり、明らかなsteroid特異性を示した。この至適条件を用いてヒト海綿骨骨芽細胞に、高い親和性をもった核内ERが存在することを証明し、今後の新しいestrogen療法開発のための有用な検討法となり得ることを明らかにした。