

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 14 日現在

機関番号：27102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：平成 24 年度 ～ 平成 24 年度

課題番号：24659865

研究課題名（和文）人工無重力装置を用いた移植骨の術後骨吸収メカニズムの解明

研究課題名（英文）The clarification of the mechanism of postoperative bone resorption using simulated microgravity machine.

研究代表者 細川隆司

(HOSOKAWA RYUJI)

九州歯科大学 歯学部 教授

研究者番号：60211546

研究成果の概要（和文）：

本研究の目的は、人工無重力装置を用いていわゆるメカノバイオロジーによる研究デザインにより骨吸収メカニズムの一端を解明することとした。マウス由来上皮細胞株 GE1 をコントロール群（以下 1G 群）、微小重力環境群（以下 CL 群）でそれぞれ培養後、0, 3, 5, 7, 10 日後に各群 3 サンプルずつサンプリングした。その結果、CL 群では 1G 群と比較して細胞数の増加率が約半分に抑えられる傾向が示された。また、1G 群では細胞が平面的に観察されるのに対し、CL 群では細胞境界の明瞭化が観察され、異なる細胞形態を示す可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

In this study, we tried to clarify the mechanism of unloading-induced bone loss in some sort by mechano-biological method using simulated microgravity machine. Murine gingival epithelial cell line, GE1, were cultured in both groups, control (1G) group and micro gravity (CL) group. Cells were cultured continuously for 10 days and sampling were done on days 0, 3, 5, 7, 10, each taking 3 samples from each group. In result, CL group demonstrated inhibition of cell proliferation to half of that of 1G group. Also, morphological differences were suggested since cells in the 1G group were observed flat in uniform surface while cells in the CL group showed distinct cell boundary.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴理工系歯学

キーワード：微小重力、メカノバイオロジー

1. 研究開始当初の背景

抜歯後の歯槽骨（顎骨歯槽突起）や移植骨、GBR 等で造成された骨は、おそらく廃用性萎縮に似たメカニズムで術後吸収を起こすことが知られている。一方で軌道上の宇宙ステーションに滞在する宇宙飛行士は、同じく廃用性萎縮に似た現象として、重力の物理刺激が失われると骨量が減少することが知られているが、そのメカニズムについては明らかではない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生理的な術後骨吸収に密接に関わっている口腔組織を形成する細胞と物理刺激に焦点を当て、人工無重力装置を用いていわゆるメカノバイオロジーによる研究デザインによりインプラント周囲支持組織吸収メカニズムの一端を解明することとした。

3. 研究の方法

GE1 (マウス由来上皮細胞株, RIKEN) を 12.5T 組織培養フラスコ (BD Falcon, ベントキャップタイプ) を用いて SMF101 培地 (FBS+, PC/SM+, EGF10ng/ml 要時添加), 至適温度 33°C, 5%CO₂ 環境下で培養した. コントロール群 (以下 1G 群), 微小重力環境群 (以下 CL 群) それぞれフラスコ 18 個, 予備 2 個, 計 38 個に播種 (細胞密度 0.7×10^4 cells). 細胞がフラスコ底面に接着後 (約 8 時間後), CL 群を 3 次元重力分散型模擬微小重力装置 (3-D クリノスタット) に搭載した.

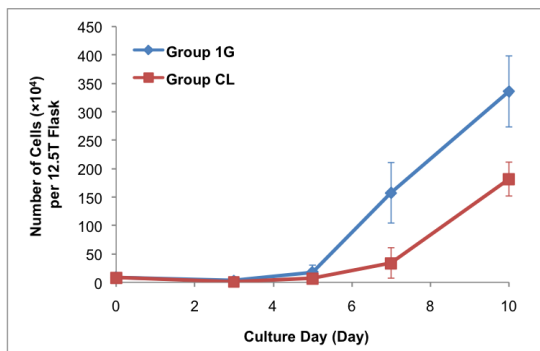
10 日間継続培養し, 0, 3, 5, 7, 10 日後に各群 3 サンプルずつサンプリングした. サンプリングは, 培養容器ごとに細胞数をカウントし, 増殖に及ぼす影響の検討を行った.

実験細胞の準備には 9.0mm ディッシュ (IWAKI) を用いて培養し, 3.24×10^6 個まで増やしたものの 4 枚作成し, 1 枚より実験用細胞を播種, 3 枚を 0 日としてサンプリングした. また, 3-D クリノスタットに 10 日間培養し, 培養 0, 3, 5, 7, 10 日後の細胞形態を光学顕微鏡で観察し, 1G 群と比較検討を行った.

4. 研究成果

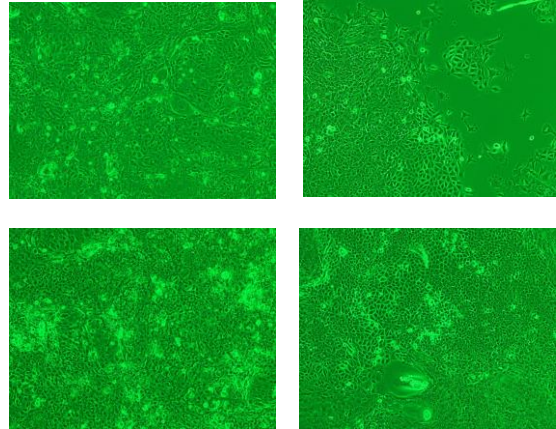
(1) さまざまな培養用プラスチックディッシュを用いて 3-D クリノスタットでの培養を行ったところ, ほとんどの容器において固定方法に問題が生じたが, 12.5T 組織培養フラスコ (BD Falcon, ベントキャップタイプ) では培養液の漏れ等の問題はなく, 培地交換も行えた. このフラスコを用いることにより, 長期間の培養も可能となることが示唆された.

(2) 次に, GE1 細胞がフラスコ底面に接着後 (約 8 時間後), CL 群を 3-D クリノスタットに搭載した. 10 日間連続培養し, 細胞増殖を検討した結果, 培養 4 日目くらいまでは同様の増殖を示したものの, 5 日以降に関しては CL 群では 1G 群と比較して細胞数の増加率が約半分に抑えられる傾向が示された.



形態を比較したところ, 1G 群では細胞が平面的に観察されるのに対し, CL 群では細胞境界の明瞭化が観察され, 異なる細胞形態

を示す可能性が示唆された.



(上 Day7, 下 Day10, 左 1G 群, 右 CL 群)
以上の結果より, メカニカルストレスのない無重力状態では細胞増殖が抑制され, 形態も変化する可能性が示唆された.

5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 2 件)

T. Maeda, C. Masaki, M. Kanao, Y. Kondo, A. Ohta, T. Nakamoto, R. Hosokawa. Low-intensity pulsed ultrasound enhances palatal mucosa wound healing in rats, Journal of Prosthodontic Research, 57, 93-98, 2013. (査読有) DOI: 10.1016/j.jpor.2012.11.001

C. Mukai, T. Nakamoto, Y. Kondo, A. Ohta, C. Masaki, R. Hosokawa. Clinical Evaluation of Dental Metal Hazards and Therapeutic Effects of Shortwave Diathermy in Dental Medicine. International Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry. in press, 2013. (査読有)

〔学会発表〕 (計 1 件)

向坊太郎, 三隅沙織理, 村上貴也, 我如古清太, 細川隆司, 低出力超音波 (LIPUS) 治療器による軟組織創傷治癒の促進効果, 日本口腔インプラント学会九州支部会, 2103 年 1 月 20 日, 大分.

〔図書〕 (計 1 件)

細川隆司, 見る目が変わる! 「欠損歯列」の読み方, 「欠損補綴」の設計 パラファンクションの病因・影響・対応の現在, クインテッセンス出版, 164 頁, 2013.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 件)

名称:

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

細川隆司

(HOSOKAWA RYUJI)

九州歯科大学 歯学部 教授

研究者番号：60211546

(2) 研究分担者

中本哲自

(NAKAMOTO TETSUJI)

九州歯科大学 歯学部 准教授

研究者番号：30514989

正木千尋

(MASAKI CHIHIRO)

九州歯科大学 歯学部 助教

研究者番号：60397940

近藤祐介

(KONDO YUSUKE)

九州歯科大学 歯学部 助教

研究者番号：00611287

(3) 連携研究者

()

研究者番号：