

骨芽細胞様細胞に対する溶出シリコンの影響

(名工大院) ○小幡亜希子・春日敏宏

Effects of soluble silica on osteoblast-like cell functions / ○Akiko Obata, Toshihiro Kasuga (Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology) / Effects of silicate ion species derived from siloxane-doped vaterite on mouse osteoblast-like cell (MC3T3-E1 cells) functions were evaluated. The siloxane-doped vaterite powders were prepared by a carbonation method using aminopropyltriethoxysilane as a silica source. MC3T3-E1 cells were cultured in culture-media containing 0.5 ~ 50 ppm of Si^{4+} ions. The cell numbers and ALP activities in the cells were estimated after 7 ~ 21 weeks. There was no differences in the numbers among the cells cultured in all media. The ALP activity in the cells cultured in 50-ppm medium was significantly lower than those in 0.5 ~ 10-ppm media after 21-week culturing. 問合せ先: obata.akiko@nitech.ac.jp

<背景>

ケイ酸イオン種は、骨芽細胞の増殖や石灰化を促進する機能を示すと報告されている[1]。当研究室ではこれまでに、炭酸カルシウムの多形の一つであるバテライトにシランカップリング剤を用いてシロキサンを導入し、シロキサン・バテライト粒子(SiV)を作製した。このSiV粒子は約1 μm 径の球状粒子であり、水溶液中にてケイ酸イオン種を溶出する。SiV粒子を生分解性ポリマーの一つであるポリ乳酸(PLLA)と複合化して得たSiV・PLLA複合膜上では、バテライト・PLLA複合膜と比較して、マウス骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1 cell)の増殖や分化が優れた[2]。

SiV粒子から溶出するケイ酸イオン種による骨形成性細胞への影響を検討すべく、本研究では、SiV粒子を用いて作製したケイ酸イオン種含有培地を用いてMC3T3-E1細胞培養試験を行い、細胞の増殖性とALP活性値の変化を観察した。得られた結果について、SiV・PLLA複合材料を用いたときの培養試験結果と比較し、ケイ酸イオン種の供給システムの違いによる細胞挙動の変化を考察した。

<実験方法>

SiV粒子(Si; 2 wt.%含有)を炭酸ガス化合法にて作製した(Fig.1)。シリカ源としてアミノプロピルトリエトキシシラン(APTES)を用いた。0.5 gのSiV粒子を乾熱滅菌し、15 mlの α MEM培地(10% FBS含有)に浸漬し、37°CのCO₂インキュベーター内で24時間保持した。遠心分離後、ICPを用いて培地溶液中のシリコンイオン濃度を測定した。所定の濃度に設定すべく α MEM培地を用いて調整し、これを培養試験に用いた。96ウェルプレートを用いて、MC3T3-E1細胞を 1.8×10^3 cell/wellとなるよう播種した。作製したケイ酸イオン種含有培地を用いて所定期間培養した。

<結果と考察>

0.5~50 ppm範囲の種々の培地を作製し培養試験を行ったところ、生細胞数においては有意な差が見られなかった。ALP活性値については、培養7日後において、1 ppm培地の値が25, 50 ppm培地の値と比較して有意に高かった。培養21日後では、50 ppm培地の値が0.5~10 ppm培地の値より有意に低かった。ケイ酸イオン種が多すぎると、分化に影響をおよぼすことが示唆された。0 ppm(培地まま)と比較したとき、増殖性およびALP活性値ともにケイ酸イオン種添加による促進効果はみられず、SiV・PLLA複合膜上での細胞挙動と異なっていた。

[1] Xynos ID, Edgar AJ, Buttery LDK, Hench LL, Polak JM. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;276(2):461-5.

[2] Obata A, Tokuda S, Kasuga T. *Acta Biomater.* 2009;5(1):57-62.

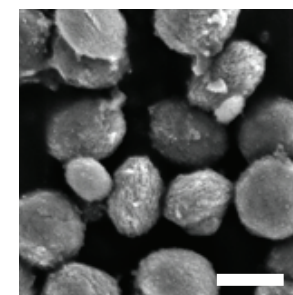


Fig. 1. SEM image of SiV particles. Bar; 1 μm .