

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09085

研究課題名(和文)自己多血小板血漿療法の至適条件の解析

研究課題名(英文) Analysis for the optimal condition of the autologous platelet rich plasma therapy

研究代表者

吉田 衛 (Yoshida, Mamoru)

東京慈恵会医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10266702

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)： 腱症に対するPRP治療の至適血小板濃度を、アキレス腱症の動物モデルを用いて解析した。血小板濃度75万又は100万/ $\mu$ LのPRPで治療したラットの自発運動量は、健常レベルまで回復し、血小板濃度50万や150万/ $\mu$ LのPRPで治療したラットと比較し有意差があった。組織レベルでは、血小板濃度75万又は100万/ $\mu$ LのPRPで治療したラットは、血小板濃度50万や150万/ $\mu$ LのPRPで治療したラットと比較し、組織修復が進み、アポトーシス細胞数は少なかった(統計学的検定が可能な標本数は得られていない)。このことから、腱症に対するPRP治療の至適血小板濃度は、75～100万/ $\mu$ Lであることが推察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでPRP治療の至適血小板濃度は不明であり、施設間や精製キット間で濃度は統一されておらず、異なる条件下での治療成績が論じられてきた。本研究により、至適条件が明らかとなり、今後は統一した条件でPRP治療が施行されることにより、本治療法の適応と限界が明確になり、それにより、治療効果の予測が容易になることから、PRP治療か手術治療かの治療方法の選択が適切に行われ、最短時間で治療を行うことが可能になり、実臨床に多大な貢献ができる。

研究成果の概要(英文)： In an animal model of tendinopathy, we determined if there was an optimal PRP platelet concentration. PRP at platelet concentrations of 50(P50), 75(P75), 100(P100) and 150  $\times$  10000/ $\mu$ L(P150) or normal saline (control) was injected into the tendinopathy tendon. Activities in the P75 and P100 were significantly greater than in the P50, P150 and control. The numbers of microtears, laminations and apoptotic cells in tendons in the P75 and P100 were fewer than in the P50, P150 and control (Because of a few sample numbers, no statistical analysis was performed). These findings indicated that the optimal PRP platelet concentration was approximately a range of 75 to 100  $\times$  10000/ $\mu$ L.

研究分野：PRP治療、スポーツ障害

キーワード：Platelet-rich plasma Platelet concentration Leukocyte concentration Enthesopathy Tendinopathy Sports injury

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. **研究開始当初の背景** 自己多血小板血漿 (Platelet-rich plasma, PRP) は、肘内側外側上顆炎やアキレス腱症などの付着部腱症の治療に応用されるが、最大治療効果の得られる至適血小板濃度は未だに不明である。施設間で異なる条件の PRP が作成され、臨床研究に使用されるため、PRP 治療の有効性について、統一したエビデンスが得られず、本治療の有効性については未だに明確な見解や研究結果が得られていない。
2. **研究の目的** PRP 治療における血小板の至適濃度を明らかにし、明確な基準を設けることにより、他施設間で本治療の有効性について比較解析が可能となり、効率の良い治療を実践でき、臨床に大きな貢献が期待できる。本研究では、動物モデルを用いて、疼痛抑制効果と組織学的検索を用いて、PRP 治療における至適条件を解析した。
3. **研究の方法** ラットの両側アキレス腱踵骨付着部に、300IU/mL のコラゲナーゼを各肢 50 microL ずつ注射し、自発運動量が 25% 以上低下した個体を腱症モデルとして選択し、組織学的に腱症の発症を確認した。これらを 6 匹ずつの 5 群に分け、両側アキレス腱腱症部に、生理食塩液 (C 群) 血小板濃度 50 万/ $\mu$ L の PRP (50 群) 血小板濃度 75 万/ $\mu$ L の PRP (75 群) 同 100 万/ $\mu$ L の PRP (100 群) 同 150 万/ $\mu$ L の PRP (150 群) を、各肢 50 microL ずつ注射し、疼痛の指標となる夜間 12 時間の自発運動量を、自発運動測定装置 (スーパーメックスセンサ、室町機械) を用いて 19 日間測定した。PRP は、Kaylight 社製 MyCells を用いて、同種ラットの全血から、まず、血小板濃度 170 万/ $\mu$ L のマスター PRP を作製し、これから、各濃度の血小板 PRP を、血小板を含まないラットの血漿を用いて希釈し作製した。組織学的検索では、各群から採取した片側アキレス腱の H&E 染色組織標本と TUNEL 標本を作製し、腱症特異的組織所見とアポトーシス細胞数について観察した。
4. **研究成果** PRP 注射後 2 日目から、75 群と 100 群の自発運動量は、50 群と 150 群と C 群の運動量より有意に大きかった ( $P < 0.05$ )。75 群の運動量は、6 日目までは、100 群の運動量と有意差はなかったが、8 日目以降は 100 群の運動量より有意に大きく ( $P < 0.05$ ) 健常レベルまで回復した。50 群と 150 群の運動量は、8 日又は 12 日目までは C 群の運動量より有意に大きかったが ( $P < 0.05$ ) 健常レベルより低く、14 日目以降は低下し C 群との有意差はなかった (図 1)。組織学的検索では、75 群と 100 群の H&E 染色組織標本では、50 群と 150 群と C 群と比較し、腱症特異的組織所見 (micro tear, lamination) は少なくみられ、組織修復の進行が、他の群と比較しみられた (予算制約のため、統計学的解析が可能な標本数は確保できなかった) (図 2)。アポトーシス細胞数は、75 群と 100 群は、50 群と 150 群と C 群と比較し、少なかった (予算制約のため、統計学的解析が可能な標本数は確保できなかった) (図 3)。
5. **考察** これまで、自己多血小板血漿治療は、欧米を中心に施行されているが、いまだに統一した多血小板血漿の定義、血小板数、白血球数などの基準、標準治療方法などが決定されていない。そのため、各施設で治療に使用している多血小板血漿の血小板数、白血球数、フィブリン濃度などの主要パラメーターには、大きな違いがみられ、それぞれの疾患に対する治療効果の判定に混乱を来しており、多くの無作為対照症例研究が施行されたにもかかわらず、いまだに、治療効果について有効なエビデンスが得られていない。また、治療方法、治療適応などについても、統一した見解や定義が制定されていないため、多くの臨床研究が施行されたにもかかわらず有効なエビデンスが得られていない。本研究では、血小板濃度 75 万/ $\mu$ L 又は 100 万/ $\mu$ L の PRP で治療した腱症ラットの自発運動量ならびに組織学的指標は、健常レベルまで回復し、その他の血小板濃度の PRP で治療したラットの運動量と比較し、有意差がみられたことから、腱症に対する PRP 治療の至適血小板濃度は、75 ~ 100 万/ $\mu$ L であることが推察された。これまで、細胞レベルでの報告はあるが、臨床に近い動物実験での PRP 治療の至適血小板濃度についての報告はなく、本研究結果は、迅速に臨床治療に用いることができ、世界で初めて明確な基準を示した研究であり、今後の PRP 治療の効果を高め、臨床成績の向上に寄与することから、非常に意義深く、価値の高いものであると考える。

図1 . 血小板濃度の異なる PRP を注射したアキレス腱症ラットの自発運動量

50 群( ), 75 群( ), 100 群( ), 150 群( ), 対照群(X) \*p<0.05

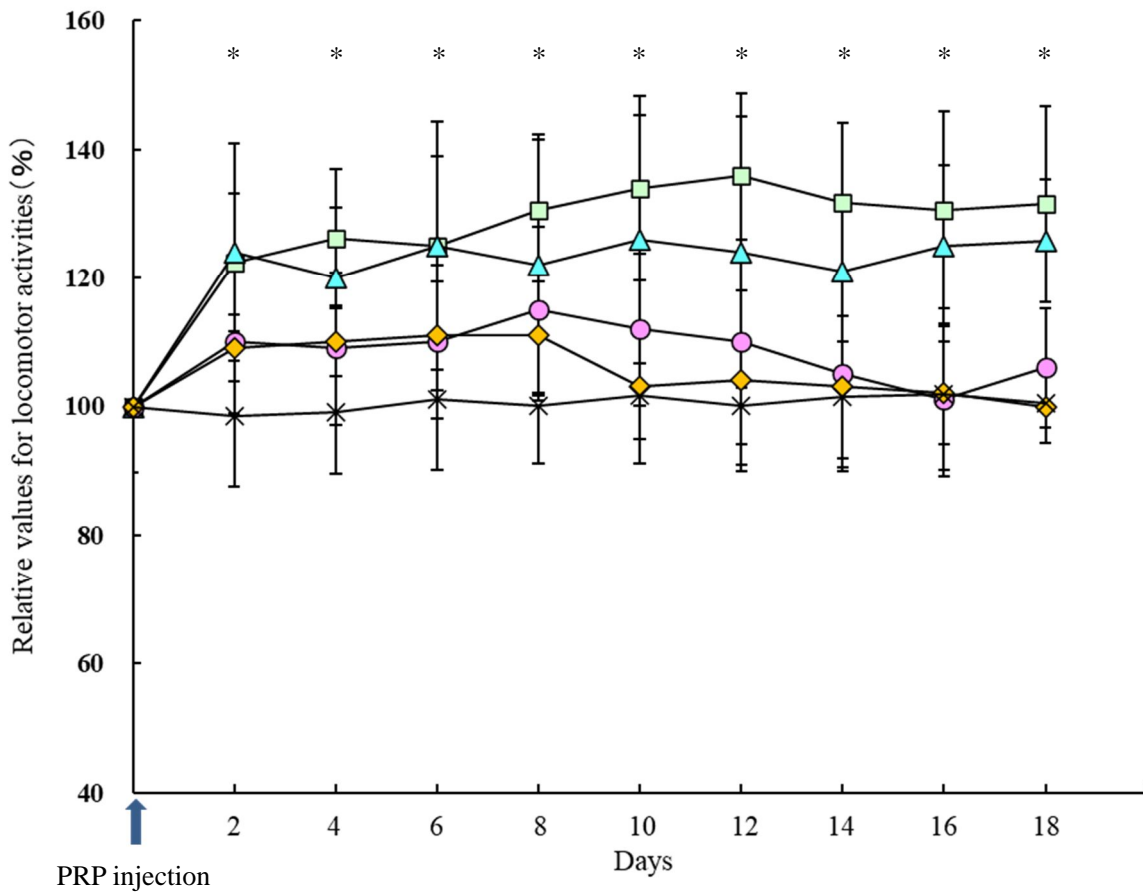


図2 . アキレス腱付着部の H&E 組織標本 a. 50 群 b. 75 群 c. 100 群 d. 150 群 e. 対照群

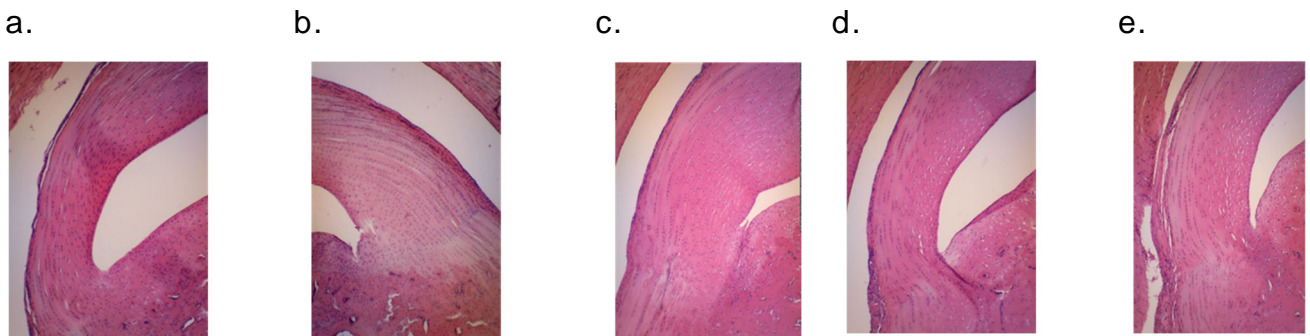
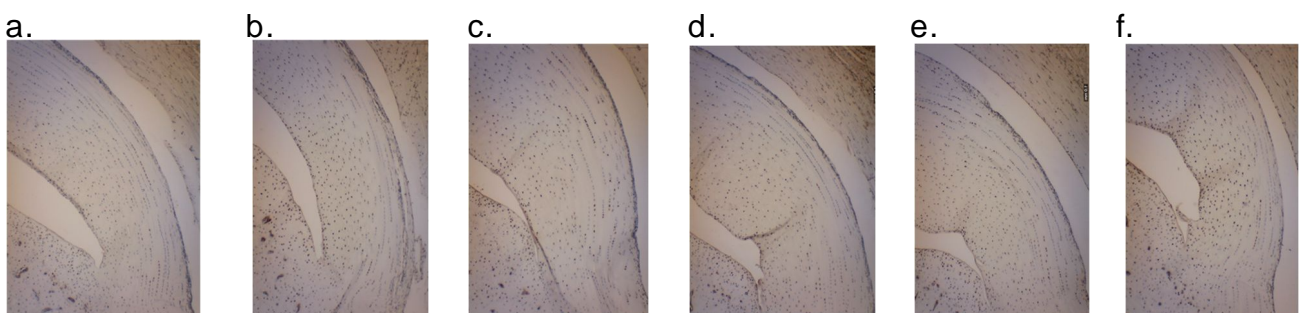


図3 . アキレス腱付着部の TUNEL 標本 a. 健常群 b. 50 群 c. 75 群 d. 100 群 e. 150 群 f. 対照群



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 吉田 衛	4. 巻 33(10)
2. 論文標題 肩・肘投球障害に対する多血小板血漿療法	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Monthly Book Orthopaedics	6. 最初と最後の頁 136-144
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 吉田 衛、斎藤 充	4. 巻 71(12)
2. 論文標題 肘関節内側・外側上顆炎に対する多血小板血漿(PRP)治療	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 臨床雑誌“整形外科”	6. 最初と最後の頁 1286-1292
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 吉田 衛、舟崎裕記、丸毛啓史
2. 発表標題 腱症に対するPRP治療の至適血小板濃度の解析
3. 学会等名 第93回日本整形外科学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田 衛、舟崎裕記、斎藤 充
2. 発表標題 腱付着部症のPRP治療における疼痛抑制と組織修復の至適血小板濃度
3. 学会等名 第94回日本整形外科学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	舟崎 裕記  (Funasaki Hiroki)  (70199412)	東京慈恵会医科大学・医学部・准教授   (32651)	
研究 分担者	丸毛 啓史  (Marumo Keishi)  (70199925)	東京慈恵会医科大学・医学部・教授   (32651)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------