



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（医学）
学位記番号	論 第 1 6 2 7 号
氏 名	寺田 聡史
授与年月日	平成 26 年 3 月 28 日
学位論文の題名	Use of an Antifibrotic Agent Improves the Effect of Platelet-Rich Plasma on Muscle Healing After Injury (抗線維化薬の使用は筋挫傷後における多血小板血漿の効果を改善する。) J Bone Joint Surg Am. 2013 Jun 5;95(11):980-8
論文審査担当者	主査： 和田 郁雄 副査： 岡本 尚, 大塚 隆信

【目的】

筋挫傷はスポーツ外傷の中で頻度の高い疾患の一つであるが、しばしば受傷後の筋組織の癒痕形成により不可逆的な機能障害を引き起こす。近年、多血小板血漿(Platelet Rich Plasma:PRP)に関する研究が散見されるが、筋肉においては PRP に含まれる Transforming growth factor beta 1(TGFβ1)のため、PRP が受傷後の癒痕組織形成を悪化させる可能性もあり、その詳細は不明である。一方我々は、アンジオテンシン2受容体拮抗薬であるロサルタンが、TGFβ1 を抑制することで筋修復効果と癒痕化抑制効果をもたらし、筋挫傷後の治療に有用である事を報告してきた。したがって我々は筋挫傷に対する PRP とロサルタンの併用療法がそれぞれを単独で使用するよりもより効果的に筋の回復を促進すると推察した。

本研究の目的は、マウス骨格筋挫傷モデルに対して PRP とロサルタンの併用療法が効果的であるか調査することである。

【方法】

筋挫傷モデルは、8週齢の C57BL/6 野生型マウスを用い、両側の前脛骨筋に打撲外傷を作成した。PRP はあらかじめ同タイプのマウスから血液を採取し、遠心分離を行い作成した。損傷後4群 (コントロール群, PRP 群, Losartan 群, PRP/losartan 群 (n=17/群)) に分け、PRP 群には、20μl の PRP を前脛骨筋の損傷部に受傷1日後に注射、Losartan 群には、受傷3日後から 10mg/kg/day のロサルタンを飲料水と混ぜて投与した。PRP/losartan 群に対しては、両方を併用した。これらに対し、受傷後2, 4週で筋力生理学的検査、1, 2, 4週で組織学的検査を行い評価した。

【結果】

血液中の平均血小板数は $38.0 \pm 4.5 \times 10^4$ platelets/ml であったが、この研究で使用した PRP 中の血小板数は $208.0 \pm 25.8 \times 10^4$ platelets/ml であり、約 5.5 倍増加していた。

また PRP 内 TGF-β1濃度は $3998.5 \text{ ng TGF-}\beta 1/\text{ml}$ であり、乏血小板血漿(PPP)内の TGF-β1 濃度 ($242.1 \text{ ng TGF-}\beta 1/\text{ml}$)と比べて約 16.4 倍であった。

受傷後2週目の HE 染色では PRP 群と PRP/losartan 群の再生筋線維数はコントロール群と比較して有意に増加した。受傷後 4 週の PRP/losartan 群では、他の 3 群より有意に筋再生線維が増加した。受傷後4週目のトリクロム染色では、Losartan 群と PRP/losartan 群の癒痕組織領域は他群と比べて有意に減少した。受傷後4週目の生理学的検査では、PRP/losartan 群の単収縮とテタニー収縮の筋力が他群と比較して有意に増加した。

受傷後1週でのPRP治療群(PRP群, PRP/losartan群)のVEGF発現、CD31染色領域共に、コントロール群, Losartan群と比べて有意に大きかった。

【まとめ】

- 1) マウス筋挫傷モデルに対する PRP とロサルタンの併用療法は、筋線維再生を促進し線維癒痕化を抑制することで良好な筋力回復を得た。

- 2) PRP に含まれる筋に影響を与える全ての growth factor を特定することは困難ではあるが、筋組織にとっては有害である TGF- β 1 を中和する事は、骨格筋損傷に対する PRP の効果を改善すると推察された。

論文審査の結果の要旨

【背景・目的】

筋損傷はスポーツ外傷の中で頻度の高い疾患の一つであるが、治癒過程においてしばしば Transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) が関与している癒痕形成により不可逆的な機能障害を引き起こす。それに対してアンジオテンシン 2 受容体拮抗薬である Losartan が、TGF- β 1 を抑制することで筋修復促進効果と癒痕化抑制効果をもたらす、筋損傷後の治療に有用である事が報告されている。更に近年、多血小板血漿 (Platelet Rich Plasma: PRP) についてもスポーツ外傷治療の良好な成績が報告されているが、筋損傷の治療においては PRP に含まれる TGF- β 1 により、PRP が受傷後の癒痕組織形成を悪化させる事が危惧されている。本研究は筋損傷に対する PRP と Losartan の併用療法がもたらす治療促進効果について、それぞれの単独使用との比較検討を行った。

【方法】筋損傷モデルは、8週齢の C57BL/6 野生型マウスを用い、両側の前脛骨筋に打撲外傷を作成した。PRP はあらかじめ同タイプのマウスから血液を採取し、遠心分離を行い作成した。損傷後 4 群 (コントロール群, Losartan 群, PRP 群, PRP/Losartan 群) (n=21/群) に分け、PRP 群には、20 μ l の PRP を前脛骨筋の損傷部に受傷 1 日後に注射、Losartan 群には、受傷 3 日後から 10mg/kg/day の Losartan を飲料水に混ぜて投与した。PRP/Losartan 群に対しては、両方を併用した。受傷後 2, 4 週で生理学的検査、1, 2, 4 週で組織学的検査を行い比較検討した。

【結果】受傷後 4 週の生理学的検査では、PRP/Losartan 群の単収縮とテタニー収縮の筋力が他群と比較して有意に増加した。受傷後 2 週の HE 染色では PRP 治療群 (PRP 群, PRP/Losartan 群) の再生筋線維数はコントロール群と比較して有意に増加し、受傷後 1 週で PRP 治療群 (PRP 群, PRP/Losartan 群) の CD31 染色領域は、コントロール群, Losartan 群と比べて有意に大きかった。受傷後 4 週のマッソントリクロム染色では、Losartan 治療群 (Losartan 群, PRP/Losartan 群) の癒痕組織領域は他群と比べて有意に減少し、受傷後 2 週の Losartan 治療群 (Losartan 群, PRP/Losartan 群) の pSmad2/3 染色領域はコントロール群, PRP 群と比べて減少していた。

【考察・結論】マウス筋挫傷モデルに対する PRP と Losartan の併用療法は、筋再生を促進し癒痕化を抑制することで良好な筋力回復を得た。Losartan 併用により、筋損傷後の癒痕形成に関与する TGF- β 1 を抑制し、骨格筋損傷に対する PRP 治療の効果が促進された事が示唆された。

【審査委員会】はじめに主査から、PRP を筋肉内に注射する際、FGF を含んだフィブラストスプレートのようにゲル状にしなかった理由について、筋損傷の部位として前脛骨筋を選んだ理由について、高血圧薬である Losartan を内服することで低血圧などの合併症が発生する可能性について、先天性筋性斜頸のような他疾患での癒痕抑制効果についてなど 11 項目、次に第一副査から Losartan が TGF- β 1 を抑制する事に対するエビデンスについて、筋再生と筋線維化の間に逆相関関係について、など 10 項目の質問があった。また、第二副査からは専門科目としてサルコペニアについて、ロコモティブシンドロームについてなど質問があった。

これらの質問に対して申請者から適切な回答が得られ、学位論文の内容を十分理解し、大学院博士と同等の学力を有しているものと判断された。本研究はスポーツ外傷で高頻度に見られる筋損傷治療において、PRP と Losartan の併用療法が、筋再生促進並びに癒痕形成抑制効果をもたらす事を明らかにした。よって、本論文筆頭著者には、博士 (医学) の学位を授与するに相応しいと判定した。

論文審査担当者 主査 和田郁雄 副査 岡本尚 大塚隆信