

[Q & A (質問と回答)] ②

回答者：川瀬 知之 (新潟大学大学院医歯学研究科 准教授)

※以下、Q & A内の添付ファイル (資料) は運営上、公開することが困難なためご容赦下さい。

Q

今、一番混乱している点を教えて下さい。

西山先生の論文では、

PRGF は白血球をほとんど含まないという点を示されていると思います。

そこで白血球の存在は、あまり良い働きをしないような事を述べられているのではないのでしょうか？

(理解が違ったらすみません)

ただ、白血球はサイトカインを放出するので、**PRGF** では酵素も少なくなっているかと思います。

炎症性サイトカインは、感染予防等でプラスの働きをするのでは・・・。

この点を上手く理解できないでいます。

A

白血球に関しては隔靴搔痒の感があり、なかなか切り込んでいけず立ち往生しています。**Chourkoun** は白血球を含めるべきとしているのに対して、**PRGF** の開発者の **Anitua** は含めるべきでないという立場で静かな論争になっています。先生のご質問は核心を突いたもので、今後の研究の原点として心にとめていただければと思います。

西山論文では、データがないので「(臨床使用で)白血球がないほうがいい」とは主張していなかったと思います。ただ、**Anitua** よりのスタンスであることは事実で、培養細胞の増殖データから、白血球を含む **PRP** は増殖を阻害するようだから、組織の再生において有害に作用する可能性もあるということを書いたように記憶しています。**Chourkoun** は白血球を増量することで、もともとその部位に存在する白血球と協力して、炎症に伴い死んだ組織や細胞の除去(**debridement**)が促進されて、あたらしく組織を再生させるうえで好都合だろうという主張です。**Anitua** は、白血球はもともとその部位にもあるし、血流で運ばれてくるだけで十分で、外部から添加するのは炎症を増悪させるだけだという主張です。炎症は生体防御反応で、ある程度の反応がなければその後の再生もうまくいかないといわれていますが、増悪されたり慢性化の引き金となっては意味がありません。

おそらく、そのへんは体質や治療部位の特性や含まれる白血球の種類(リンパ球が多いか好中球や単球が多いか)などによっても大きく違ってくるのではないかと思います。外から入れた白血球が生体内でどのように働いているかなど明らかにしたいところです。ただ、すべての症例に通用するような、一般化は難しいと思っています。その意味でも、無難な線は白血球を入れないほうだと思っているわけです。←あくまで、現時点では、ということですが。

質問、いつでも大歓迎です!!

Q

話しが違いますが。昔から MARX 直伝 HAVEST のマシンで何度やっても PRP のゲル化はしなかった経験がありました。今回何人かの iPRF においてもトロンビンや塩化カルシウムを使用しても強い弾力のあるゲル化にならないケースもありました。

A

「t-PA 関与の可能性」について、そのメールにレスつけたかったのですが、見つけられず、あらたにスレを立ち上げますことご容赦ください。

まず、血液検査データがない状況での、根拠に乏しい個人的な見解ということで斜め読みしていただいてけっこうです。個人的には、t-PA の活性亢進や発現亢進の可能性もあると思いますが、t-PA が関与しているとしてもほかの要因と複合化している可能性が高いと思います。

その根拠は、血栓治療の補充療法として t-PA を投与するときは、血漿中濃度よりはるかに高いレベルを投与することになり、副作用として出血傾向になります。しかし、奥寺施設長には出血傾向は認められないようです(また、後日談として、CGF は問題なく調製できることを確認しました)。

t-PA はフィブリンに高い特異性があり、その前駆体のフィブリノーゲンに対しては効果がありません。ですから、いったんできたフィブリンに対して溶解するように作用します。ただ、試験管内で不溶化して現れてくるフィブリンを時間差をもって溶かしている様子を目視できるというレベルではないので、常識的には「フィブリンができない」と見えるのも仕方ないと思います。しかし、トロンビンや Ca やアクチベーターを増量することによって、不溶化したフィブリンのもやもやと出現する様子をとらえることができてもいいようにも思います。

ちなみに、内因性の t-PA の血漿中濃度が上昇するのは、血栓ができやすい状態です。生体防御反応として、血管内にできた血栓を見つけると t-PA を動員して溶解しようとするため、t-PA の増産が必要になるというわかりやすい連鎖反応です。ということを考えますと、フィブリノーゲン、プロトロンビン、アンチトロンビンなどの定量とともに、t-PA の定量や血栓の検査(エコーやアンギオなど)でデータを得ていただけると次なる一手のヒントになると思います。

また、ゲル化については最近自分で手を動かして確認したのですが、抗凝固剤の選択と用量も大きく影響します。PRP を調製する場合、採血量 8.5mL に対して抗凝固剤として ACD-A を 1.5mL 程度混合することが一般的かと思います。しかし、ACD に含まれるグルコースはフィブリンゲルの形成を抑制する効果があります。したがって、トロンビンを加えてゲル化させたとしても、そこに含まれるフィブリン線維は細いものだけです。ちなみに、クエン酸を抗凝固剤として採用した場合、トロンビンを加えなくても Ca 単独(37℃)でゲル化させることができます。含まれるフィブリン線維は中太のものが主体となります。

Q

お忙しいところ、基本的な質問で申し訳ありません。

先日参加させて頂いた血球数データーは 何を裏付けるのに有効だったのでしょうか。

また今回のインプラント学会での発表ではどのように入れたら良いでしょうか。

A

これはもともとの PRP 研究のところから発しているものですが、増殖因子が濃縮されているというのが血小板が濃縮されているということに由来しているという考え方を踏襲して、それを検証したという位置づけになります。

言い換えますと、TGF- β 1 や PDGF-BB は血小板の多く含まれていることが分かっていて、これらの増殖因子を再生医療に有効に使うために血小板濃縮液(platelet concentrates)が開発され、発展してきたということになります。

そう考えると、当初の論文に入れていた血小板数と増殖因子の相関関係のグラフは残すべきだったと思われるかもしれませんが、われわれも迷いましたが、「引き算法」で A-PRF/CGF の血小板数を評価すること自体に疑問を感じており、相関関係を出すことまで踏み切れなかったというのが本音です。実際、本日、CGF と赤血球を取り出した後の採血管を 3 回洗浄し、細胞を剥離する酵素液で採血管の内壁に接着している可能性がある血球をはがしてカウントしたところ、相当数の付着があることが確認されました(ただし、A-PRF ではほとんど検出されなかった)。また、赤血球のクロットにも血小板が含まれているものと想像されます。ですから、正確を期すなら、これらの血球数も引き算しないといけないわけです。

このような背景をご理解いただき、学会発表では、それぞれの血小板濃縮液に血小板がどれくらい含まれているか、「概算を示す」ということで、結果の冒頭にもってきてもらうのがよろしいと思います。そして、結論のところ、「A-PRF/CGF に血小板が濃縮されていることが、増殖因子が高濃度に含まれていることの根拠になっていると考えられます」というような形にもっていけばよいのではないのでしょうか。最終的に「これらの結果から、A-PRF/CGF は細胞の足場としてだけでなく、増殖因子の供給源として、組織再生を促進している可能性が強く示唆されました」と形で結んではいかがでしょうか？

以上、ご検討のほどよろしく願いいたします。