

O-1-4-6

2D In Vitro システムにおけるヒト血小板からラット歯髄由来線維芽細胞へのミトコンドリア移入
ー多血小板血漿 (PRP) 療法への新たな示唆ー○西山 晃司¹⁾, 川端 秀男¹⁾, 北村 豊¹⁾, 辻野 哲弘¹⁾, 渡辺 泰典¹⁾, 笠原 朋似¹⁾, 日高 敏郎¹⁾, 川瀬 知之²⁾¹⁾一般社団法人東京形成歯科研究会, ²⁾新潟大学大学院医歯学総合研究科歯科薬理学分野Mitochondrial transfer from human platelets to rat dental pulp-derived fibroblasts in the 2D in vitro system:
additional implication in PRP therapy○NISHIYAMA K¹⁾, KAWABATA H¹⁾, KITAMURA Y¹⁾, TSUJINO T¹⁾, WATANABE T¹⁾, KASAHARA T¹⁾, HIDAKA T¹⁾,
KAWASE T²⁾¹⁾Tokyo Plastic Dental Society, ²⁾Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences Division of Oral Bioengineering

I 目的: 多血小板血漿 (PRP) 療法は, 放出される成長因子によって組織再生を促進するという考えのもとに広く応用されてきた。しかし, 臨床成績にはばらつきが見られ, 成長因子中心の従来の概念だけでは説明できないと感じられるようになってきたのも事実である。近年, 成長因子に加えて血小板からのミトコンドリア移動が細胞機能の回復や組織再生に関与するという新たな概念が提唱され注目を集めている。本研究では, 単純な二次元培養系を立ち上げ, 血小板から傷害を受けた線維芽細胞へのミトコンドリア移動が起こりうるかどうか検証した。

II 材料および方法: 非喫煙の健康なボランティア (n = 12, 年齢: 28 ~ 63 歳) の血液よりリン酸緩衝液にて休止状態の血小板懸濁液を調製し, 対照としてこの懸濁液を超音波処理したライセートを調製した。

共培養の相手方として, 紫外線 (UVC) 照射により傷害したラット歯髄由来線維芽細胞 (RCP-C2A) を作成し, 24 時間共培養時の細胞動態はタイムラプス撮影により記録した。

ミトコンドリアの局在は, MitoTracker® (ThermoFisher), ミトコンドリア膜電位検出試薬 MT-1 (同仁化学), あるいはヒトミトコンドリア抗体 (Sigma-Aldrich) を用いて可視化した。また細胞機能への影響は, 生存活性と細胞内 ATP レベルにより評価した。

III 結果: UVC 照射により傷害した歯髄細胞は生存能力を著しく失ったが, 休止状態の血小板で処理することにより, ある程度生存活性の低下を抑制した。この現象と並行して, 血小板由来のミトコンドリアが歯髄細胞の細胞質内に局在するのが観察された。また, 歯髄細胞内 ATP レベルは休止血小板との共培養で有意に増加した。

IV 考察および結論: 血小板から歯髄細胞へのミトコンドリアの移動は, このような単純な二次元培養系でも確認され, 機能的にも傷害細胞の失われた活性を補填している可能性が示唆された。血小板によるミトコンドリアの供給が, 増殖因子への応答が低下している傷害部位の細胞を蘇らせ, 増殖因子への応答性を取り戻すきっかけになっているとしたら, PRP の調製法や投与法にさらなる最適化の余地があると思われる。(被験者全員の同意を得ている。倫理審査委員会番号 15000140 承認 承認番号 2019-0423 号)