

氏名	谷口 悠		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 8708 号		
学位授与年月	平成 30年 3月 23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	変形性膝関節症に対する多血小板血漿治療とその基礎研究		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	関堂 充
副査	筑波大学教授	薬学博士	荒川 義弘
副査	筑波大学准教授	博士（学術）	早田 匡芳
副査	筑波大学講師	博士（医学）	岡本 嘉一

論文の内容の要旨

本研究では、多血小板血症治療（PRP）を用いた基礎研究とその変形性膝関節症に対する治療を行っている。その要旨は以下のとおりである。

（目的）

著者は、日本人健常人ボランティアを対象に多血小板血漿（以下PRP）に含まれる成長因子濃度と年齢・性別・PRP内血小板数との相関を解析している。さらに、日本人変形性膝関節症（以下、膝OA）患者に対するPRP関節内注射治療の安全性と実現可能性を明らかにすることと、実現可能性を検討している。

（対象と方法）

著者は2つのコホートを用いて研究を行なっている。1つは、20歳から49歳までの健常ボランティア39名（平均年齢 33±8.7歳、男性:女性=19:20、平均BMI=22±4.0）より末梢血36mlを採取し、1回遠心法（2100 rpm, 8分間, 室温, PRGF system IV, BTI biotechnology institute）で6.0mLのPRPを調製している。CaCl₂で活性化後、その上清を保存した。年齢別に20歳代(n=13, 平均年齢 23.6 男性:女性=7:6)、30歳代(n=13, 平均年齢 34.3 男性:女性=7:6)、40歳代(n=13, 平均年齢 43.6, 男性:女性=6:7)の3群に分け、PRPの血小板数を計測し、成長因子濃度（PDGF-BB、TGF-β1、VEGF、EGF、FGF、IGF-1、HGF）をenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)法により測定している。被験者の年齢・性別・PRP血小板数と成長因子濃度の関係について統計学的に検討しているものである。

一方、患者のコホートとして、50歳以上75歳未満、3か月以上続く膝関節痛で疼痛スコア（visual analogue scale : VAS）35以上、Kellgren-Lawrence分類1-3の日本人を対象とした。末梢血36 mLを採血後、1回遠心（2100 rpm・8分）を行った後、赤血球と白血球を含まないその直上の血漿層をPRPと定義し計8.0 mLを抽出、このうち6.0 mLを1週間おきに計3回関節内注射している。主要評価項目を注射時および経過観察期間における有害事象発生の有無とその詳細、副次評価項目としてVAS、変形性膝関節症患者機能評価尺度(以下、JKOM)、日本整形外科学会膝痛疾患治療成績判定基準(以下、JOA score)を治療前、3回目の注射終了後1、3、6ヶ月で評価している。PRPの評価はPRP内の白血球

数、血小板濃縮率と成長因子濃度をELISA法で測定し。統計解析には経時的変化はBonferroni法を用いて、2群間の比較はstudent-t検定を用いて示している。

(結果)

著者は、健康人コホートの解析により、PRP血小板数の平均は $41.4 \pm 12.2/\mu\text{l}$ 、PRP濃縮率(PRP/末梢血血小板数)は 1.8 ± 0.4 倍としている。PDGF-BB・IGF-1は年齢と負の相関を認め($r=-0.32$ 、 -0.39)、性別による成長因子濃度に有意差を認めなかった。PRP血小板数とはPDGF-BB、TGF- β 1、EGF、HGFが正の相関を認めている($r=0.39$ 、 0.75 、 0.71 、 0.48)。一方、患者コホートは10名(全例女性、平均年齢：60.2歳、平均BMI：22.6)でPRPを用いた治療を行っている。PRPの血小板濃縮率は平均1.7倍で、成長因子濃度の平均はPDGF-BB $6.8 \pm 3.4 \text{ ng/mL}$ 、VEGF $213 \pm 207 \text{ pg/mL}$ 、TGF- β 1 $33.3 \pm 10.8 \text{ ng/mL}$ と報告している。注射部位局所の疼痛など軽微な有害事象を認めたが、いずれも48時間以内に症状が軽快したとしている。VAS平均値は注射前71.4mmが注射後6ヶ月で18.4mmに改善し($p<.05$)、10人中8人の患者が6ヶ月後に50%以上のVASの軽減を認めたと報告している。JKOMの平均値は注射前35.2が注射後1ヶ月で14.3に改善し($p<.05$)。JOA scoreも注射前平均70だったが、注射後6ヶ月で89.5と改善した($p<.05$)ことを報告している。

(考察)

本研究で調製したPRPに含まれる成長因子濃度は被験者の年齢、血小板数の影響を受けていることを明らかにしている。PRPは患者自身の末梢血から簡便に調製可能であるが、調製法により異なる生理活性を持つことが知られており、調製法ごとに血小板数や成長因子濃度を解析する必要があると示している。本結果は、LP-PRPを20-40歳代の患者に用いる際の有用な基礎的データとなりうると考えられた。

一方、患者へのPRP投与研究により、1回遠心法で調製したleukocyte-poor PRP関節内注射治療(週1回、計3回)は、重篤な合併症の発生なく、注射後6ヶ月間にわたって膝関節痛を軽減したことを示している。日本人膝OA患者に対する新たな保存療法となる可能性があることを明らかにしている。

審査の結果の要旨

(批評)

本論文では現在スポーツ障害や関節障害に用いられている多血小板血漿(PRP)の基礎及び臨床研究である。PRP治療は臨床への実施が先行し、特に日本人では正常値などの基礎データが不足している。様々な調整方法があり、著者が使用しているPRGF-Endoret® IV Systemにてまず正常ボランティア(20歳から49歳までの39名)より末梢血採血を行い、PRPを採取し20-29歳、30-39歳、40-49歳の3群に分け比較している。血算、成長因子を測定し、本機器での濃縮率が1.8倍となり、年代別では、PDGF-BB、EGF、IGF-1、PBとPRPの血小板数で年齢が若いほど多かったが性差は認めなかったことを明らかにしている。また血小板数が多いほど成長因子濃度が多いことが示されており、治療に有用な情報と考えられた。しかし、採血された年齢が次に目的としている変形性膝関節症(膝OA)の好発年齢よりも若いため、今後の追加研究が必要と思われた。次に膝OAに対するPRP関節内投与であるが、1週おき6mlを計3回投与し、VAS、変形性膝関節症患者機能評価尺度(以下、JKOM)、日本整形外科学会膝痛疾患治療成績判定基準(以下、JOA score)、膝X線を治療前、3回目の注射終了後1、3、6ヶ月で評価している。VAS、JKOM、JOA scoreは改善し、膝X線では明らかな変化は認めなかったとしている。本研究にてPRP関節内投与は日本人にも効果が期待できることが示された。

以上より、本論文には、臨床上有用な研究成果が十分な考察とともにまとめられており、その信頼性が十分に検証されていると判定できる

平成29年12月26日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。