


2016.12.6
Research Meeting

木村青兎



ウサギアキレス腱切離モデルにおける PRPによる腱修復効果のMRIを用いた 定量的評価の検討

PRP

• 血液の遠心分離により得られる、血小板を多量に含む
血漿

Marx 1988

• α 顆粒内に豊富な成長因子を含む

Augustus 2012

- Transforming growth factor (TGF- β)
- Platelet-derived growth factor (PDGF)
- Vascular endothelial growth factor (VEGF)
- Fibroblast growth factor (FGF)
- フィブリノーゲン

他

• 骨癒合促進効果を有する

Marx 1988

• 膝蓋腱炎に有効

Ventrano 2013

• 変形性膝関節症に対する鎮痛効果

Tietze 2014

PRPアキレス腱投与のpositiveな論文

- 兎の腱修復早期でのPRPによる血管新生増大

Foot & ankle int. N Lyras:2009

- 兎のアキレス腱にPRP投与で成長因子発現増加
- 3-4週で組織学的に有意差あり

Foot & Ankle surgery. N Lyras:2011

J of foot and ankle surgery. N Lyras:2010

- ラットアキレス腱、PRP投与群で力学強度で有意差あり

Wound Rep Reg Kaux : 2012

- PRPによる腱細胞増殖促進作用あり

Am J Sports Med. de Mon M 2008

PRPのnegativeな論文

- ヒトのアキレス腱断裂にPRP投与で有意差なし
(Randomized Study) Thorsten S 2011

- ウサギアキレス腱でPRP VS NS(-)、4Wで組織と
力学的に有意差なし Baran 2016

- ウサギアキレス腱でPRPによる腱修復促進効果はなし
Hukawa 2015

今までの実験と結果（府川Dr）

ウサギアキレス腱切離モデル

PRP VS NS (control)

切離後 2・4・8・12週でMRI撮像と組織学的評価

MRI：T2Mapping T2値を測定

組織学的評価：Bonar scale(腱修復半定量的評価)



- 修復部のT2値とBonar scaleは相関した
- PRPによる腱修復促進効果は認めず

今までの実験と結果（山本Dr）

ウサギアキレス腱切離モデル

PRP① VS PRP②

PRP① ⇒ 府川Dr、血液10ml使用

PRP② ⇒ PRPの濃度↑（血液20ml使用）

活性化（トロンビン）

切離後8週で、**力学**試験とPRPの成長因子（PDGF、TGF- β ）測定



PRPの濃度を2倍にした群では血小板数は増加したが、成長因子と力学試験で差はなかった

目的

ウサギアキレス腱断裂モデルにおいて

- ①濃度（血小板数）が異なる2つのPRPを用いて、腱修復促進効果を検討すること
- ②T2mappingが腱修復部の力学的な修復過程を反映するか検討すること
- ③DTI、T1 ρ での腱修復評価が可能かを検討すること

実験計画

①ウサギ（NZW：24週齢）

3群 PRP低濃度群、PRP高濃度群、Control群

アキレス腱切離後 2・4・8・12週で屠殺

Nをそれぞれ6とすると、 $6 \times 3 \text{群} \times 4$ 計72匹



②MRI撮像（T2mapping、DTI、T1 ρ ）

@東千葉メディカルセンター



③右足は組織標本作製（Masson-Trichrome染色）

左足は力学試験

PRP作成法

- Mycelsのキットを使用（Leukocyte-poor PRP(LP-PRP)）
- 1本につき10mlの血液を使用
- 2.5mlのPRPを採取
 - ⇒0.5mlを検査（血小板測定）
 - 1.0mlずつ片足に投与



PRP作成法

- 低濃度と高濃度の2群間で3倍程度の差をつける
血液は40ml使用
Mycells社の50ml規格キット
(アメリカFDA認可取得中)



PRP採血

- 耳動脈からは20ml/羽が限界
高濃度PRPを作成するには他家血を使用

心嚢穿刺し採血



アキレス腱断裂手術

- アキレス腱切離モデルの作成
全身麻酔

皮膚切開後、アキレス腱を踵骨付着部より2cm近位で横切

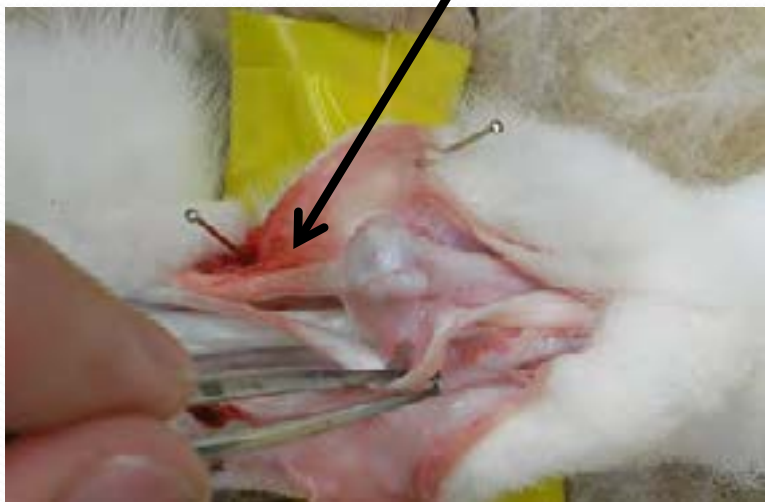
足底筋腱は内副子として温存し、術後の外固定はなし

アキレス腱断裂手術



足底筋 (Plantaris)

アキレス腱

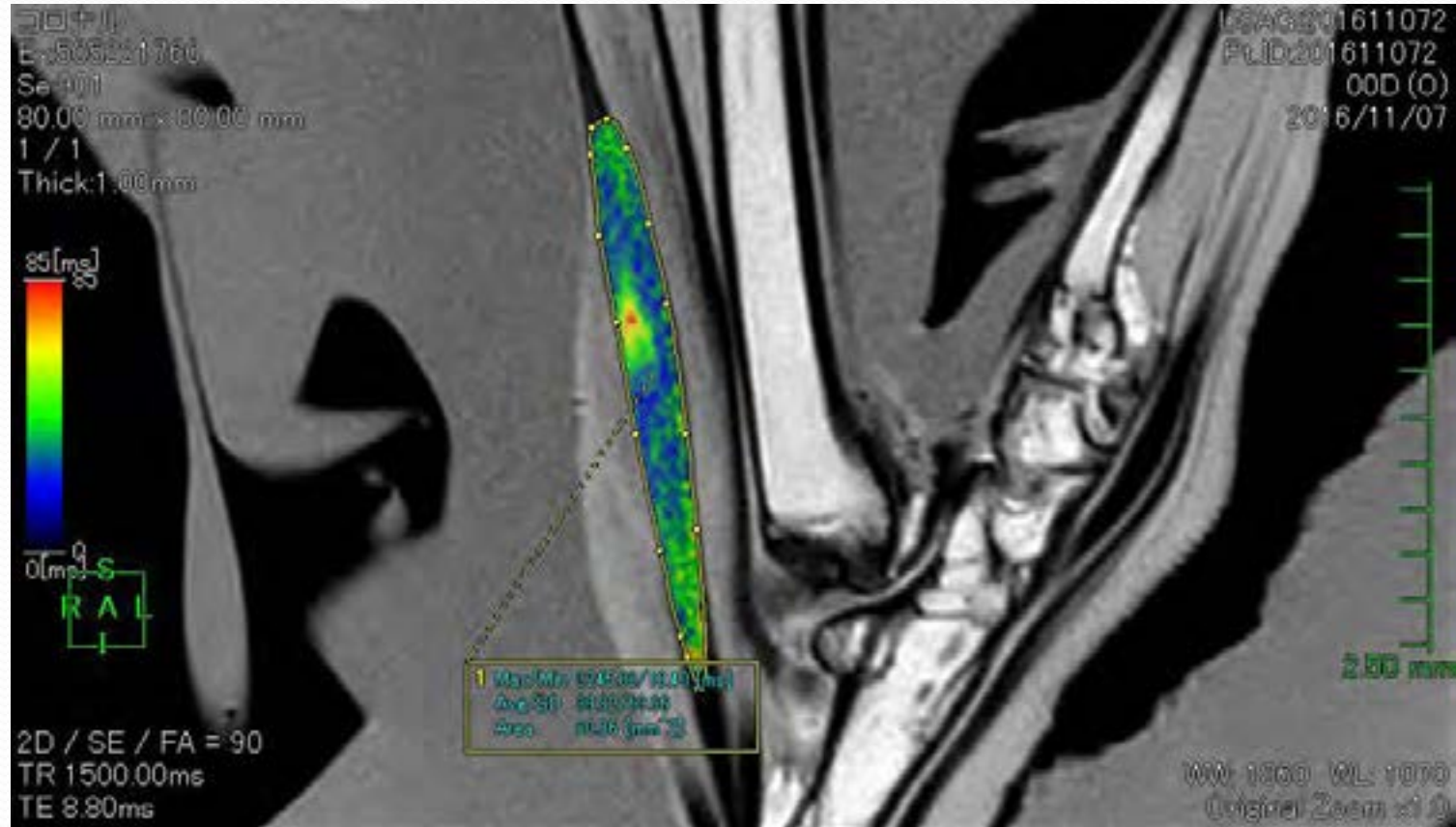


踵骨付着部2cm近位で横切



MRI

T2mapping



- 修復部の近位、中央、遠位の1/3 ずつに分割して関心領域を設定し、各領域の平均T2 値を計測



力学試験

遠位は踵骨を含めて近位は踵骨付着部から5cm

5N、5分間のpreloadの後、10mm/分で牽引

断裂部の最大負荷

剛性

最大応力

弾性率





組織学的評価

- アキレス腱の矢状断像で5 μ m厚のスライスを作成



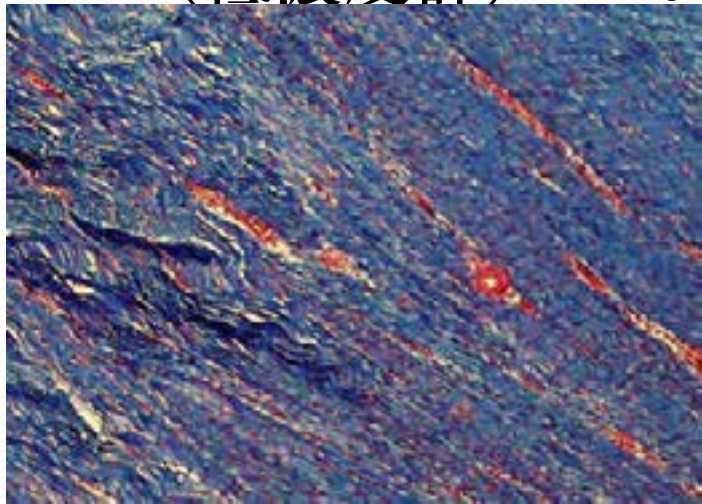
- HE染色、Masson-Trichrome染色標本を作成



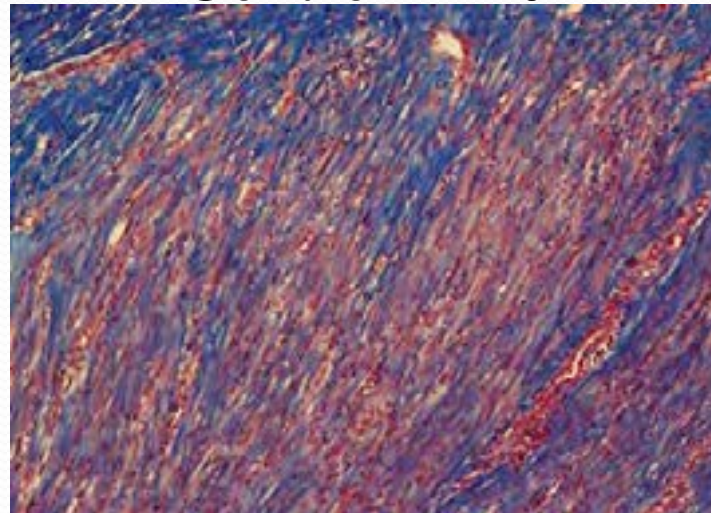
- Bonar scale（腱修復の半定量的評価方法）で評価
4項目（腱細胞、細胞間基質、コラーゲン、血管新生）
からなり、各項目0-3点の計12点満点で評価
（正常：0点）

組織像 術後4W

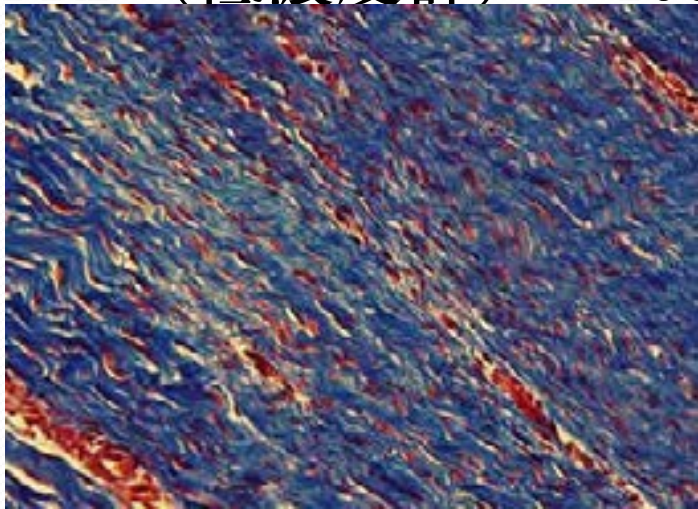
PRP (低濃度群) ×40



Control ×40



PRP (低濃度群) ×100



Control ×100

