

O-1-3 血小板ミトコンドリアの線維芽細胞への移動による呼吸活性の亢進： PRP の作用機序に関する新たな可能性

Increased respiratory activity in fibroblasts receiving mitochondrial transfer:
an additional implication in PRP therapy

○藤石 晃大¹⁾, 川端 秀男¹⁾, 日高 敏郎¹⁾, 辻野 哲弘¹⁾, 渡辺 孝夫¹⁾, 渡辺 泰典¹⁾, 奥寺 元¹⁾, 川瀬 知之²⁾

○FUJISHI A¹⁾, KAWABATA H¹⁾, HIDAKA T¹⁾, TSUJINO T¹⁾, WATANABE Tk¹⁾, WATANABE Ti¹⁾, OKUDERA H¹⁾, KAWASE T²⁾

¹⁾ 東京形成歯科研究会, ²⁾ 新潟大学大学院

¹⁾ Tokyo Plastic Dental Society, ²⁾ Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

I 目的： 多血小板血漿（PRP）療法は、とくに高齢者や糖尿病などの生活習慣病を患っている患者に対して予知性の低い治療法と漠然と認識されるようになってきている。その理由として、動員できる間葉系幹細胞（MSC）数に限りがあることがあげられるが、個々の MSC の増殖因子への応答性の低下という要因も考えられる。われわれは、適切な PRP 治療が MSC の質も改善するという仮説を立てて、先の本学会総会において、2次元共培養系において血小板から線維芽細胞へのミトコンドリアの移動を証明した。本研究では、その線維芽細胞に取り込まれたミトコンドリアが正常に機能しているかという疑問に対して呼吸活性から検証した。

II 材料および方法： 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血小板懸濁液を調製した。ラット歯髄由来線維芽細胞は dideoxycytidine (ddC) にてミトコンドリアの複製を阻害した状態にして共培養に用いた。24 時間共培養ののち、洗浄により血小板を取り除いた線維芽細胞の懸濁液を調製した。細胞懸濁液を気密セルに封入した状態で、SI 社の精密溶存酸素測定システムを用いて一定時間に消費する酸素量を測定した。ミトコンドリアの局在は、汎用の蛍光試

薬を使用した。

III 結果： ddC 処理により線維芽細胞中のミトコンドリア数は継代を経るごとに減少し、それに伴って呼吸活性も低下した。視覚的に評価する限りでは、線維芽細胞ミトコンドリアの減少に比例することはなく、常時相当数の血小板ミトコンドリアの移動が認められたものの、呼吸活性がそれに反比例するように回復率を示すことはなかった。ある程度ミトコンドリアが残っている状態の、ddC 処理後 2-3 代継代目の線維芽細胞（ddC 処理日数：6-8 日間）において 130-150% の呼吸活性亢進が認められた。

IV 考察および結論： 線維芽細胞に取り込まれた血小板ミトコンドリアは呼吸していることから、ATP 産生器官として機能していることが示唆された。血小板は不可逆的活性化（細胞死）によって、そのミトコンドリアもほとんどが機能不全に陥ると考えられることから、投与前の活性化はミトコンドリア移動に関しては適当な処置とは言えない可能性が高い。患者の全身状態や年齢に応じた最適の PRP 調製法が PRP 治療の予知性低下を防ぐものと期待される。

（倫理審査委員会番号 15000140 承認 承認番号 2019-0423）