

プロシーディング

除皺を目的とした自己白血球含有多血小板血漿 (autologous W-PRP) 注入療法の基礎から臨床

川添 剛 金 学嬉*

要旨: 近年, シワやタルミの治療として多血小板血漿 (platelet rich plasma: PRP) 注入療法が行われている。われわれは白血球含有多血小板血漿 (white blood cell-containing platelet-rich plasma: W-PRP) と PRP に関して, 基礎と臨床の両面から検討を行った。採血後, カスケードメディカル社製 PRP 分離システムで PRP, W-PRP を精製した。塩化カルシウムで活性化後ヌードマウス, ヒトへ注入し検討した。従来の PRP と比較し W-PRP は細胞誘導能が高く組織の増量・除皺効果が高いことが示された。

川添剛, 金学嬉: Skin Surgery: 17(3); 140-142, 2008

キーワード: 多血小板血漿, 血小板, 白血球, 除皺, オーギュメンテーション

はじめに

多血小板血漿 (Platelet-Rich Plasma: PRP) は血液を遠心分離して得られる, 血小板を多く含んだ血漿分画のことである。PRP に塩化カルシウムなどを添加することによって, 活性化・ゲル化し, 血小板の α 顆粒から, VEGF (血管内皮増殖因子), EGF (上皮増殖因子), KGF (角化細胞増殖因子), PDGF (血小板由来増殖因子), TGF (形質転換成長因子), FGF (線維芽細胞増殖因子), IGF などのサイトカインを放出することが知られている。ゲル化したものは, 局所でとどまり, 血小板から放出されたサイトカインを徐放することが示されており, 創傷治療に対してさらに有用であると考えられる。これらのサイトカインにより, 線維芽細胞などの細胞の増殖や血管新生を亢進させ, 創傷治療を促進させると考えられている¹⁻⁵⁾。

近年, シワやタルミの治療目的にて PRP 注入療法が行われている。しかしながら, その除皺効果に関する基礎的研究は行われていない。そこで我々は基礎的検討を行い PRP よりも, 白血球含有多血小板血漿 (White Blood Cell-Containing Platelet-Rich Plasma: W-PRP) の方が組織の肥厚をもたらす, 除皺効果が高いことを報告してきた。今回さらに, W-PRP と PRP, PPP (Platelet-Poor Plasma) などに関して基礎的, 臨床的両面より検討を行ったので報告する。

方法

まず, PRP は単一のものではないため, 除皺を目的としての組織内投与に最適な多血小板血漿の分離条件を検討した。採血後の PRP の調整には, さまざまな方法が報告されているが, 1 回遠心分離にて PRP を精製可能な方法としてカスケードメディカル社製の PRP 分離システムを用いた。遠心分離条件はプロトコルどおりの 2600 回転 6 分を含め, いくつかの方法を検討した。

従来の PRP の効果をみるためには, 2600 回転 6 分の遠心分離条件がよく, それに白血球が混在するもの (W-PRP) の効果を見るためには 1800 回転 10 分の遠心分離条件が望ましいと考えられた。得られた W-PRP, PRP, PPP をゲル化させ H.E. 染色をおこなった。また血小板, WBC, RBC, フィブリンモノマー複合体, bFGF, VEGF, IGF-1 を測定した。

つぎに, 多血小板血漿注入治療による組織の変化について検討した。同様の条件で, W-PRP, PRP, PPP を得た。10% 塩化カルシウムで活性化後ヌードマウスの耳介へ注入後 2 週目に H.E. 染色と α -SMA 染色をおこなった。

また, 同様に精製した W-PRP をヒトに注入し, 外見上の評価を行った。

結果

PRP ゲルではフィブリンネットワークに濃縮された血小板, 多少の有核球を認めた (Fig. 1a)。W-PRP ゲルではフィブリンネットワークに濃縮された血小板, 多くの有核球, 若干の赤血球を認めた (Fig. 1b)。PPP ゲルではフィブリンネットワークのみ認めた (Fig. 1c)。成分の分析結果にても PT, WBC の他にも bFGF や VEGF の優位な増加を W-PRP にて認めた。

Takeshi KAWAZOE, M.D.

* Hak Hee KIM, M.D.

医療法人社団 貴順会 吉川病院 美容皮膚形成
〒606-8392 京都市左京区聖護院山王町1

* 京都大学再生医科学研究所

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町53

受理 2008年4月1日

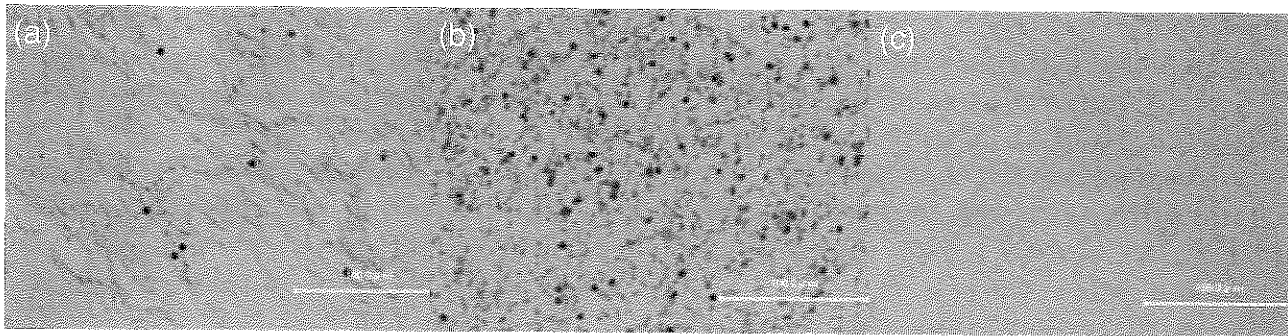


Fig. 1. Observations of H.E. staining of PRP, W-PRP, and PPP gel.

- (a) PRP: a network made up of platelets and fibrin and a few white blood cells was observed.
- (b) W-PRP: a network made up of platelets and fibrin as well as white blood cells was observed.
- (c) PPP: a network made up only of fibrin was observed.

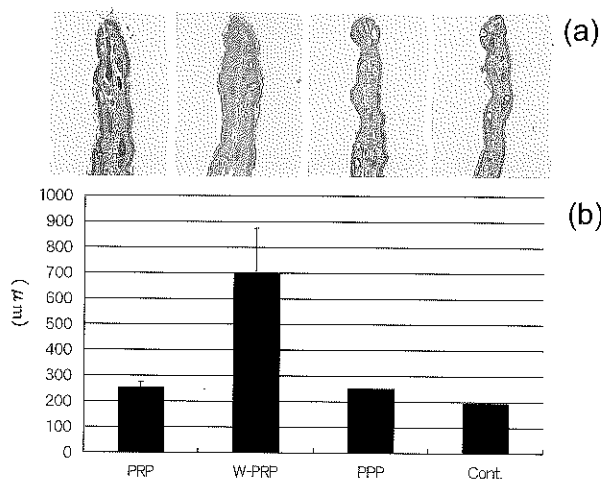


Fig. 2. (a) Photographs showing H&E staining of mice ears 2 weeks after injection. With the W-PRP group, thickening of the auricle was observed. On the other hand, with the PRP and PPP groups, a little thickening of the auricle was observed.

(b) A comparison of average values of the thickest part of the entire auricle, include the part that is not reflected in photograph of Fig. 2(a). With the W-PRP group, thickening of the auricle was observed. (n=5-9)

マウスの耳介の先端部の横断切片のHE染色所見では、生食と比較し、PPP群とPRP群で軽度の肥厚を認めた。またW-PRP群で耳介の肥厚を認めた(Fig. 2a)。耳介全体で一番肥厚した部位に関してもW-PRP群で厚い傾向にあった(Fig. 2b)。α-SMA陽性細胞もW-PRP群にて多い傾向であった。

ヒトへの注入例でも、良好なシワの改善が認められた(Fig.3)。

考 察

除皺を目的としたPRP治療においては、血小板のみならず、白血球が大切な働きをしていると考えられた。血小

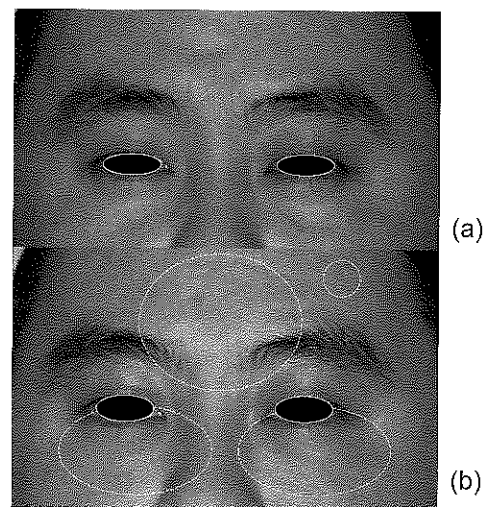


Fig. 3. Photographs showing examples of lower eyelid and forehead injection with autologous W-PRP, Male 38 years old. Wrinkle removal effects were observed after injection with W-PRP.

- (a) Before injection
- (b) Three months after injection.

板と白血球の相互作用によって、強力な細胞誘導能が得られ、繊維芽細胞を遊走させ、さらにコラーゲンの産生が増加すると考えられた⁶⁾。つまりW-PRP注入療法は、フィブリンネットワークスキャフォールドへの血小板と白血球移植によって細胞誘導をおこなう除皺治療と言えると思われる。現在除皺目的にさまざまなタイプのPRPが臨床的に用いられているが、効果を引き出すためには、含まれている血小板や白血球の濃度を吟味した上で治療を行う必要があると思われる。

また、血小板や白血球由来のサイトカインを用いる再生医療のため、適切な使用法や使用量の検討をさらに行っていく必要があると思われる。

参考文献

- 1) Marx RE : Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP?, *Implant Dent*, 10: 225-228, 2001.
- 2) Marx RE : Platelet-rich plasma: evidence to support its use, *J Oral Maxillofac Surg*, 62: 489-496, 2004.
- 3) Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, et al. : Platelet-rich plasma, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 85: 638-646, 1998.
- 4) Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton MB : Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery, *Plast Reconstr Surg*, 118: 147e-159e, 2006.
- 5) Man D, Plosker H, Winland-Brown JE : The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fine glue) in cosmetic surgery, *Plast Reconstr Surg*, 107: 229-237, 2001.
- 6) Nishimoto S, Oyama T, Matsuda K : Simultaneous concentration of platelets and marrow cells: a simple and useful technique to obtain source cells and growth factors for regenerative medicine, *Wound Repair Regen*, 15: 156-162, 2007.

A Fundamental Study and Clinical Study of Medical Treatment for Wrinkles and Sagging Skin by Injection of Platelet-Rich Plasma (PRP) and White Blood Cell-Containing Platelet-Rich Plasma (W-PRP)

Takeshi Kawazoe, M.D.

Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Kijunkai, Yoshikawa Hospital
1 Shogoin-Sanno-cho, Sakyo-ku, Kyoto, 606-8392, Japan

Hakki Kim, M.D.

Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University
53 Kawahara-cho, Shogoin Sakyo-ku, Kyoto, 606-8507, Japan

In recent years, PRP injection treatment as a filler for wrinkles and sagging skin has been conducted with an aim toward skin rejuvenation. We were able to obtain PRP containing a higher level of white blood cell component than general PRP by altering centrifuge conditions. W-PRP is our term for this white blood cell-rich PRP.

When both of these substances were injected into the auricles of nude mice and humans, a trend was found whereby W-PRP exhibited a higher level of tissue augmentation than conventional PRP. We found that W-PRP had greater effects on tissue augmentation and improving wrinkles and sagging skin.

In conclusion, we undertook to consider the involvement of white blood cells, rather than use of a platelet and fibrin matrix alone, in tissue proliferation after injection. Essentially, we believe that W-PRP is superior to conventional PRP for use in tissue augmentation aimed at medical treatment for wrinkles and sagging skin.

Key words: platelet-rich plasma, PRP, platelets, white blood cells, tissue augmentation