

～前十字靭帯部分損傷への幹細胞＋PRP療法～

Partial cranial cruciate ligament Tears Treated with stem cell and Platelet-rich Plasma combination

Therapy in 36 Dogs: a retrospective study

Sherman O. Canapp Jr et al. (2016) *Front. Vet. Sci.*, 14 December 2016

«Intro»

- ・前十字靭帯（CCL）断裂は、犬にとって後肢跛行の原因となる一般的な疾患である。
- ・間葉系幹細胞（MSC）療法は多くの整形外科で用いられている。
- ・間葉系幹細胞の由来組織は骨髓や脂肪があり、骨や軟骨、靭帯といった結合組織へ分化する。
- ・多血小板血漿（PRP）は成長因子を放出し、MSCとの相乗効果が期待される。
- ・本研究では、自家骨髓由来幹細胞（BMAC）もしくは自家脂肪由来幹細胞（ADPC）と一緒にPRPをCCL部分損傷の症例に投与した際の治療効果を検討する。

«評価項目»

- ・歩行分析：TPI%（total pressure index percent）で比較。
TPI%→地面（マット）に接触している肢の圧力／全肢が接触しているときの圧力
CCL側の肢とコントロール側（CCL非罹患）の肢（Day0,90）を比較。
CCL側の肢の経過比較（Day0,90）。
両側CCL罹患している犬は本試験からは除外。
- ・関節鏡検査：関節鏡検査でCCLの損傷を判定。損傷が50%以下の場合のみ、BMSC-PRPまたはADSC-PRP注入を行った。
- ・アンケート調査：ヘルシンキ慢性疼痛指数（HCPI）

«BMAC-PRP»

- ・大転子部より穿刺し、骨髓液を約30mlを採取→プロトコールに従いBMPC抽出。（約30,000個のBMPC）
 - ・PRP用に頸静脈から50mlの血液を採取→キットを使用しPRP作製。（約4mlのPRP）
- ※本研究では骨髓由来幹細胞は培養せず、遠心かけた骨髓液から幹細胞を回収した。

«ADPC-PRP»

- ・開腹し、約20gの脂肪組織を採取。
- ・PRP用に頸静脈から25mlの血液を採取。
- ・脂肪および血液を培養センターに送り（4℃で輸送）、ADPC培養およびPRPを作製。（約500万個のADPC）

「関節腔への投与」

- BMAC(or ADPC) : PRP = 1 : 1 で無菌的に混和して調整。
- 5ml シリンジ、22 ゲージ針を使って関節腔内に注入。
- 投与量 : 体重が 15kg 未満の場合 ; BMAC-PRP→2ml、ADPC-PRP→1ml
 体重が 15kg 以上の場合 ; BMAC-PRP→4ml、ADPC-PRP→2ml
- 投与後、ソフトパディング包帯で 12-24 h 保護。包帯を除去した後に飼い主に不安があるようならば装具を着用した。
- 投与の 2 週間前から NSAIDs、コルチコステロイド、抗炎症剤の投与は禁じられた。
- BMAC と ADPC のどちらを投与するかは飼い主が選択した。
- 組織採取後と投与後の 3 日間はトラマドールもしくはコデインが処方された。
- 投与後 8 週間は一般的なリハビリテーションも行われた。

「アンケート調査」

- ヘルシンキ慢性疼痛指数 (HCPI) を用いたアンケート調査が飼い主に対して行われた。(Table1)
- HCPI : 11 項目をそれぞれ 0-4 の 5 段階評価。(数字が低いほど痛みがない。)

TABLE 1 | Helsinki chronic pain index for veterinary use, total points: 36.

Question asked	0 Points	1 Point	2 Points	3 Points	4 Points
Rate your dog's mood	Very alert	Alert	Neither alert nor indifferent	Indifferent	Very indifferent
Rate your dog's willingness to participate in play	Very willing	Willing	Reluctantly	Very reluctantly	Does not play at all
Rate your dog's vocalization (audible complaining)	Never	Hardly ever	Sometimes	Often	Very often
Rate your dog's willingness to walk	Very willing	Willingly	Reluctantly	Very reluctantly	Does not walk at all
Rate your dog's willingness to trot	Very willing	Willingly	Reluctantly	Very reluctantly	Does not trot at all
Rate your dog's willingness to gallop	Very willing	Willingly	Reluctantly	Very reluctantly	Does not gallop at all
Rate your dog's willingness to jump (e.g., into car, onto sofa)	Very willing	Willingly	Reluctantly	Very reluctantly	Does not jump at all
Rate your dog's ease in lying down	With great ease	Easily	Neither easily nor difficultly	With difficulty	With great difficulty
Rate your dog's ease in rising from a lying position	With great ease	Easily	Neither easily nor difficultly	With difficulty	With great difficulty
Rate your dog's ease of movement after long rest	With great ease	Easily	Neither easily nor difficultly	With difficulty	Very often/always difficultly
Rate your dog's ease of movement after major activity or heavy exercise	With great ease	Easily	Neither easily nor difficultly	With difficulty	Very often/always difficultly

「研究対象」

- CCL 部分損傷と診断された 36 頭の犬を調査。(本研究はレトロスペクティブ (後ろ向き) 研究で行われた。)
- 平均年齢 : 4.8 歳 (range : 1-9.5 歳)
- ♂ : 18 頭、♀ : 18 頭
- 平均体重 : 25.9kg (range : 4.8-60.5kg)
- 26 頭が performance/sporting dogs (Table2)
- BMAC-PRP : 19 頭、ADPC-PRP : 17 頭
- 幹細胞投与後 17 頭が装具を着用した。

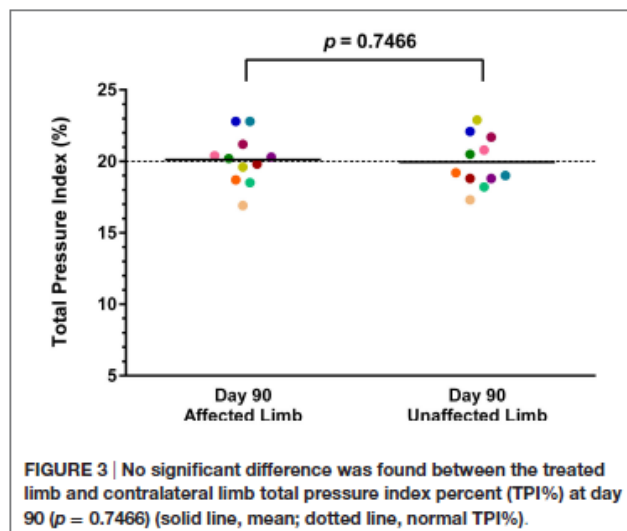
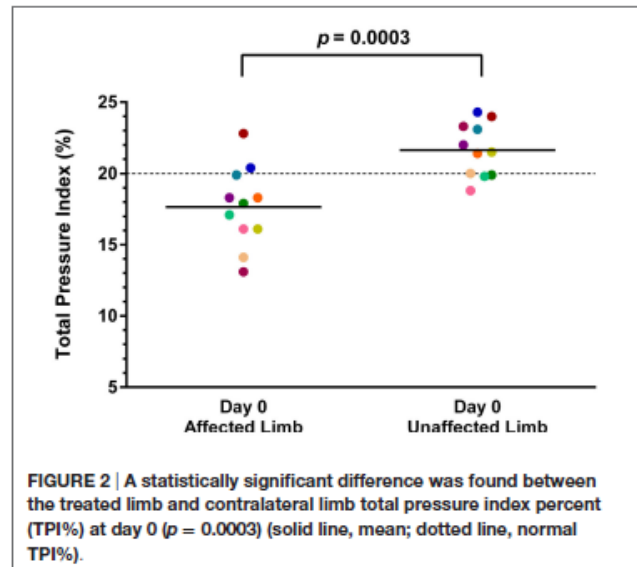
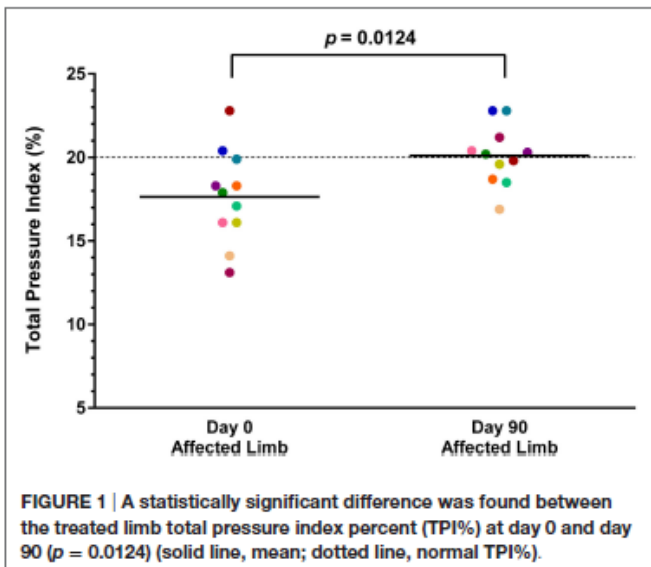
TABLE 2 | Patient occupation breakdown.

Occupation	Number of dogs
Companion	10
Performance/sport	26
Agility	15
Conformation	3
Flyball	3
Hunting	3
Herding	2
Obedience	2
Field trial	1
Search and rescue	1
Service dog	1

「結果」

○歩行分析

- 36 頭中 11 頭の犬で分析可能。(normal TPI% : 20%)
- TPI% (Day0→ Day90) : 罹患肢 (幹細胞投与) 17.7%→20.1%
非罹患肢 (コントロール) 21.7%→19.9%
- 罹患肢の Day0 と 90 で有意差あり (Figure1 ; $p=0.0124$)
- 罹患肢と非罹患肢の Day0 で有意差あり (Figure2 ; $p=0.0003$)
- 罹患肢と非罹患肢の Day90 で有意差なし (Figure3 ; $p=0.7466$)



○関節鏡検査

- Day0：36 頭を検査。
- 13 頭が左肢、22 頭が右肢、1 頭が両肢の CCL 部分損傷と診断。
- 片肢のみ罹患している 35 頭が研究対象。
- 靭帯の損傷：4 頭→軽度
31 頭→平均 20.8%の損傷 (Figure4)
- 半月板損傷：34 頭は損傷なし。
1 頭に半月板切除術を行った。
- 変性性関節症：2 頭→非常に軽度
4 頭→軽度
2 頭→中程度
23 頭→なし



FIGURE 4 | Representative image of an early partial tear of the craniomedial band of the cranial cruciate ligament at the baseline stifle arthroscopy.

- Day90：13 頭を検査。
- 9 頭で CCL の完全な回復がみられた (顕著な血管新生、正常な線維パターン)。
- CCL 傷害の領域への血液供給は、動脈から来ていた。(Figure5)
- 3 頭は改善がみられなかった→50%以上の損傷や完全断裂のいずれかに症状が進行していたため TPLO を行った。

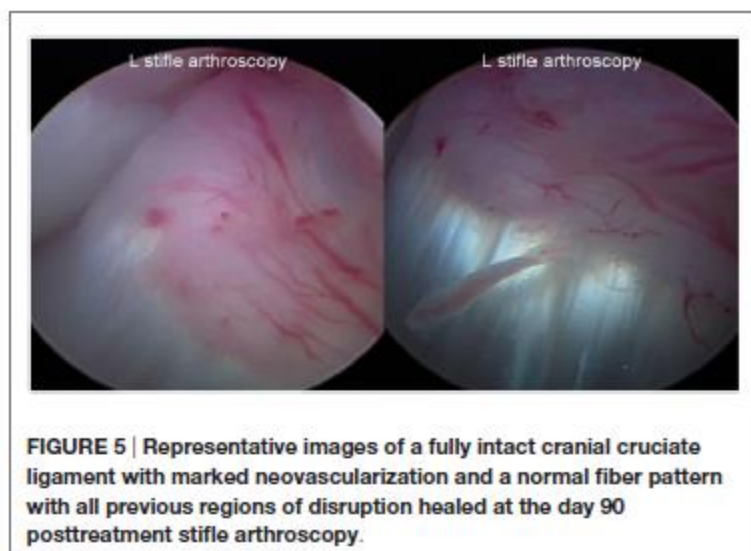


FIGURE 5 | Representative images of a fully intact cranial cruciate ligament with marked neovascularization and a normal fiber pattern with all previous regions of disruption healed at the day 90 posttreatment stifle arthroscopy.

○アンケート調査

- 飼い主に対してアンケートを実施 (29 アンケートを送付し、12 が返却された)。

- ・返却されたうち 6 頭が ADPC-PRP、残り 6 頭が BMAC-PRP を投与。
- ・フォローアップ期間（処置終了からアンケート実施までの期間）：平均 1.8 年（range;0.5-2.9 年）
- ・HCPI：平均 4.4（range;0-17）
- ・どれくらいの間跛行を示したか？：平均 2.4 ヶ月（range;0-12 ヶ月）
- ・12 頭のうち 8 頭が performance/sporting dogs で、うち 7 頭が競技等に復帰できた。
- ・残りの 1 頭もアンケート返却後に復帰した。（投与から 6 か月後）

《比較検討》

- ・36 頭中 7 頭で回復がみられなかった。
- ・Day0 における損傷具合は回復とは相関がみられなかった（ $p=0.5545$ ）
- ・回復しなかった 7 頭のうち、幹細胞投与後に装具を装着したのは 4 頭。残り 3 頭は装具未装着。
- ・装具の装着の有無は回復と相関がみられなかった（ $p=0.5545$ ）
- ・回復しなかった 7 頭のうち、ADPC-PRP 投与が 4 頭、残り 3 頭は BMAC-PRP 投与。
- ・ADPS-PRP か BMAC-PRP かは回復に相関がみられなかった（ $p=0.6843$ ）
- ・回復のみられなかった 7 頭全て TPLO が実施された。

《まとめ》

- ・本研究はレトロスペクティブ研究のため様々な治療が実施され、また、十分なフォローアップができでならず考証に不十分な点がある。
- ・BMAC-PRP と ADPC-PRP は前十字靭帯部分損傷に対して効果があることが示唆された。
- ・一方で、盲検的な研究やコントロール群の設置が必要である。
- ・BMAC や ADPC、PRP 単独で同様の結果が得られるかは不明なので、それぞれについてもデータを取る必要がある。
- ・また、細胞数のカウントやバイオマーカー解析を今後の研究では行う必要がある。

《原文アクセス》

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5155010/>