



多血小板血漿 (PRP) による 骨増生促進効果のインプラントへの応用

Platelet-Rich Plasma to Enhance Bone Augmentation for Dental Implants

アルーン ガーグ¹ しまだ じゅん² かわづ ひろし³
Arun K. Garg¹ 嶋田 淳² 河津 寛³

¹マイアミ大学医学部口腔顎顔面外科学教授 口腔インプラントセンター長

²明海大学歯学部口腔外科学第1講座助教授 口腔インプラントセンター長

³明海大学歯学部臨床教授 生涯研修部長/東京都開業



はじめに

過去10年以上にわたり、骨結合型インプラントを支持するために行う骨増生法は、一般的な方法として日常臨床に取り入れられてきた。また、骨移植をより確実に成功に導くための研究も継続的に行われている。なかでも組織誘導再生法は、これらの研究の結果もたらされた有益な方法である。

ごく最近では、骨再生を促進するために、ポリペプチドからなる成長・分化因子の適用の可能性について焦点をあてた研究も開始されている。これらの因子は、生物学的な伝達因子であり、生体の創傷治癒過程を刺激し、調整するのに重要な役割を担っている。特に、細胞分裂の誘発や細胞の遊走と分化、さらに代謝など(すなわち骨形成におけるすべての重要なステップ)の要となる細胞過程を調整している¹⁾。この理論に基づくと、これら成長因子を骨移植材料に適用することにより、骨再生の過程をさらに高め加速することが可能になる。

成長因子を効果的に利用する1つの方策は、自己血の多血小板血漿 (PRP: Platelet-Rich Plasma) を作成して骨移植部に適用することである。PRP は、少量の血液を患者から採取し、特殊な細胞分離装置を用いて血小板を濃縮することにより作られる。

血小板は、少なくとも次の4つの成長因子を豊富に含んでいる。

- ① 血小板由来成長因子 (PDGF: Platelet Derived Growth Factor)
- ② 形質転換成長因子ベータ-1 (TGF- β 1: Transforming Growth Factor- β 1)
- ③ 形質転換成長因子ベータ-2 (TGF- β 2: Transforming Growth Factor- β 2)
- ④ 血管内皮細胞成長因子 (VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor)

自家移植骨や移植骨周囲の母床骨中に存在する海綿骨髄の細胞には、これらの成長因子のレセプターが存在する²⁾。PRP を移植材料に加えることによって、移植材料の融合と成熟までの時間が著しく短縮され、骨小柱の密度が増加することもX線的に確認されている³⁾。

PRPの作成術式 (図1～図20)

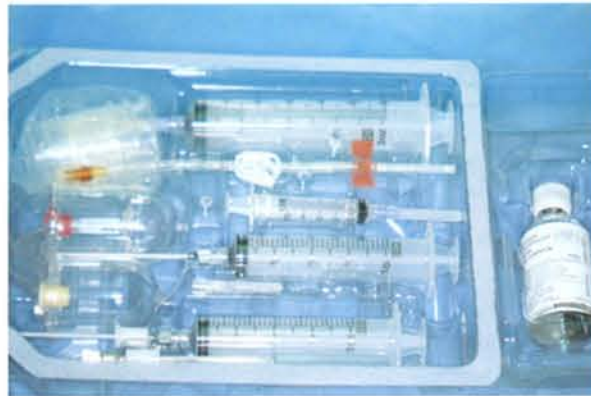


図1 PRP作成キット (PRP-1, Harvest社).



図2 採血用60ml シリンジに9mlのクエン酸抗凝固剤 (ACD-A) を採取する。



図3 60ml シリンジで採取した9mlのクエン酸抗凝固剤のうち、2mlを処理チャンバーのプラズマ側(白いマークの付いたほう)に装填する。



図4 出来るだけ丁寧に採血を行う。手荒に扱うと血小板は活性化し、赤血球は溶解することがある。女性は注射筒の全容量で60ml(血液53ml, ACD-A 7ml)、男性は注射筒の全容量で55ml(血液48ml, ACD-A 7ml)、採血量は±0.5ml以内の誤差にとどめる。採血量が不適切な場合、遠心分離器はインバランスとなり、停止するので注意が必要である。



図5 注射筒を2～3回、回転させて血液と抗凝固剤とを混和する。



図6 血液チャンバー(赤いマークの付いたほう)に差し込んで、血液と抗凝固剤混合液全部を注入する。

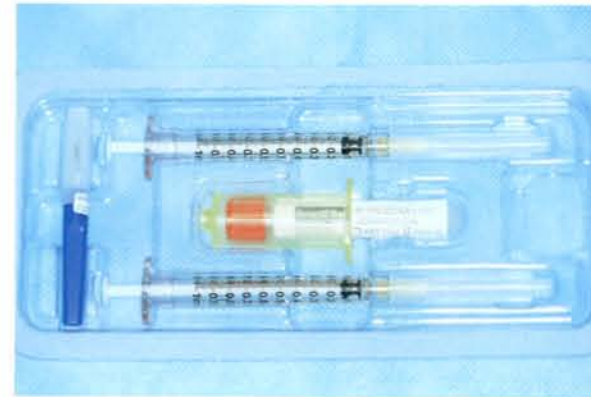


図7 AT Procoagulant Kit (自己血由来トロンビン作成キット)。



図8 アダプター付きニードルカートリッジ。

本稿では、PRPの生物学的な基本事項について文献的に再評価を行い、またその骨再生の増強効果を目的に臨床応用を試みた最近の研究結果について検討する。また、骨再生を増強するためにインプラント埋入前の移植床にPRPを用いた症例を3例供覧する。



1 PRPの成分

PRPは、通常の血液に含まれるよりも濃縮された多くの数の血小板を含むため、移植材料に加えることに

より、少なくとも骨再生の初期段階においてPDGFとTGF-βの作用が増強される。

血小板は脱顆粒されることにより、これらの成長因子が放出される。3～5日以内にすべての血小板が脱顆粒し、それら初期の成長因子の活性は7～10日続くことが一般に認められている。PRPによるはじめの促進効果は、骨再生の一連の過程であるカスケード形成の初期段階をいわゆるジャンプスタートさせるのに有用であり、結果として成熟骨の形成へとつながっていく。PRPを加えた移植床では、この初期の促進効果に

より硬組織と軟組織の治癒が高度に統合された状態で持続されていく。

PDGFは、創傷治癒の基本的なホルモンの1つと考えられており、あらゆる創傷治癒の場に出現し、骨組織の再生と修復を含む結合組織の治癒を始動させる有効な分裂促進因子(治癒細胞数の増加の引き金になる)であり、血管新生因子(毛細血管を新生する)でもあり、他の成長因子の増加調節作用(線維芽細胞様および骨芽細胞様機能を促進し、細胞分化を推進し、またマクロファージなど他の細胞の効果を加速する)も有

している³⁾。また、PDGFが幹細胞の増殖率を増加させるという報告もある²⁾。

TGF-β1およびβ2は、全身の結合組織の修復と骨再生に関与する。最も重要な働きは、骨芽細胞前駆細胞の細胞遊走と細胞分裂に関わるもので、創傷治癒と骨形成のためのコラーゲン基質の沈着を刺激する能力を有することである⁴⁾。これらの成長ホルモンは、幹細胞の増殖率を増加させることによって骨形成を促進する⁵⁻⁶⁾。

PRPのフィブリン成分 (PRPがゼラチン状になり



図9 適切な静脈に刺針し、採血を行う。また、図4に示した採血針からの採血も可能である。



図10 遠心分離器 SmartPrep (Harvest社)。



図11 SmartPrepの回転テーブルの所定の位置に、チャンバーを装填する。採取管はATアダプターにセットし、カウンターバランスとしてもう一方の回転テーブルに装填する。
注) 回転テーブル内に装填後、そのまま30分間放置する。これは血球成分(赤血球、白血球、血小板)が十分に沈殿するのに30分は必要である。すぐに遠心分離を行うとトロンビンの消費が大きく、採取できる量が減少する。30分間放置後、スタートボタンを押して、13分間の遠心分離処理を行う。

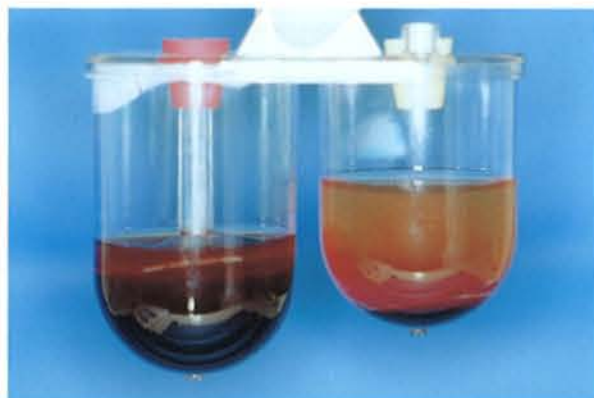


図12 遠心分離処理終了後のチャンバーの状態。赤いマークのチャンバーに赤色の赤血球が残り、白いマークのチャンバーの上層部に乏血小板血漿(PPP: Platelet Poor Plasma)、底部に濃縮された血小板(PC: Platelet Concentrate)が分離した状態で回収される。



図13 同部強拡大、底部の濃縮された多血小板血漿・PRP(濃赤色)が確認できる。



図14 チャンバーより、上層部の乏血小板血漿(PPP)を専用シリンジにて採取後、底部に濃縮された血小板(PC)と少量のPPPを10mlシリンジにて採取し、PRP(多血小板血漿)を作成する。



図15 チャンバーより採取した多血小板血漿(PRP)と乏血小板血漿(PPP)を、PRP作成キット付属の滅菌カップに分別して保存する。PPPは止血剤として用いる。



図16 遠心分離処理終了後の自己血由来トロンビン作成用血液採取管の状態。

扱いやすくなる)は、移植材を結合し、骨形成細胞が分裂しつづけられる足場として働くことにより、移植部のあらゆる所で骨伝導を補助する。その結果、通常よりも高いレベルで新生骨の形成が行われることになる。



II PRPの応用に関する研究

PRPの有用性に焦点をあてた研究は、まだ緒についたばかりであるが、これまでのところ臨床応用前の段

階の動物実験とヒトによる臨床的研究の結果から、PDGFとTGF- β または他の成長因子を適用することによって、骨再生が促進されることが一致した見解として認められ、かつ今後の臨床応用の可能性を示唆するものとして期待されている⁷⁻¹²⁾。整形外科領域の複数の報告においても、血漿から得た自己由来フィブリンによる有益な効果が得られるという報告もあり、この中でも高い濃度のPDGFとTGF- β が含まれている¹³⁻¹⁵⁾。

骨造成を88人の患者に行った無作為な臨床試験では、

移植材料にPRPを加えた群と、移植材料単独で治療した部位をコントロール群として、2人の観察者がX線的に比較して検討を行った。その結果、2カ月、4カ月、6カ月の各時点で、PRPを加えた移植部は、加えなかった場合に比べ、約2倍の骨レベルの成熟度が達成されていた。また、組織形態学的評価でも、6カ月の時点で、PRPを使用した群では、コントロール群に比較して骨密度が15~30%高いことが明らかになった²⁾。

インプラント埋入に先立ち抜歯を行った10人の患者

による無作為な臨床試験では、20週後の観察によりPRPを使用して移植を施行した群は、コントロール群と比較して著しく頬舌側ともに骨が厚く、同時に上皮化も良好であり、コントロール群では、欠損部の中心部分は結合組織で満たされる傾向があったと報告されている¹⁰⁾。



III 材料と方法

著者らは、インプラント周囲の骨造成を行う必要の



図17 ATキット中の1mlシリンジを用いて、採取管内の上澄液を1ml採取する。



図18 塩化カルシウムを0.3ml採取し、滅菌カップ内で採取管内の上澄液と混合し、1mlの自己トロンビン・塩化カルシウム混合液を作成する（自己トロンビン：塩化カルシウム=3：1）。



図19 コンクライト-Ca（塩化カルシウム溶液）。



図20 PRP溶液の入った10mlのシリンジと、自己トロンビン・塩化カルシウム混合液の入った1mlのシリンジを、専用のアプリケーター（Dual Liquid Kit）を用いて連結する。

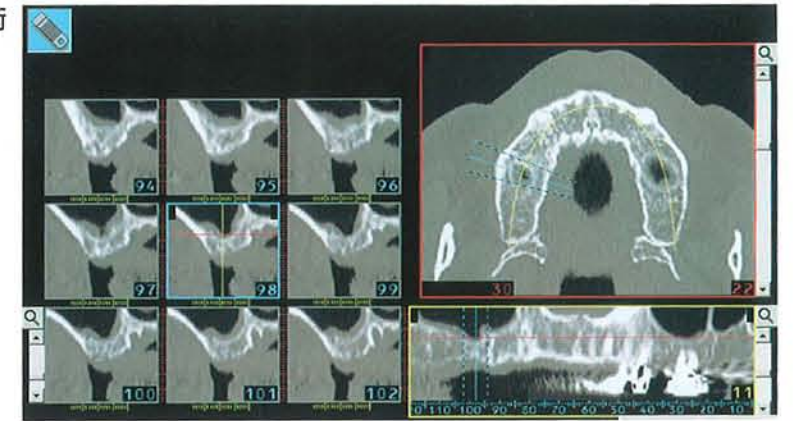
ある3名の患者にPRPを使用して施行した。いずれの症例も、全身・局所的に禁忌となる疾患はなかった。それぞれの患者に対し、図1～図20に示した方法でPRPを作成した。

引きつづき、インプラント埋入のために骨移植とPRPを併用した症例を供覧する（Case 1～3）。



図21 アプリケーターを用いて、PRPと自己トロンビン・塩化カルシウム混合液を混合し、自家骨に作用させる（PRP：トロンビン塩化カルシウム=10：1）。数分でゲル状になり、操作性に優れたボーンペーストを作り出す。

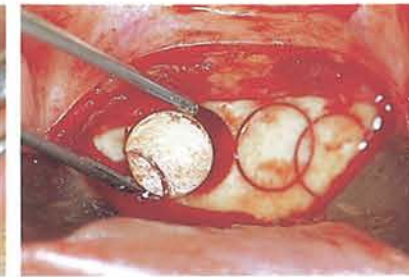
●Case 1 上顎洞底挙上術



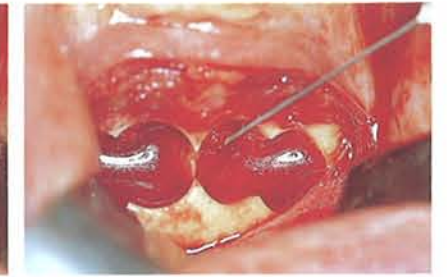
1-1 術前。



1-2 下顎左右オトガイ孔間の歯肉歯槽境粘膜に、骨膜に達する切開を行う。



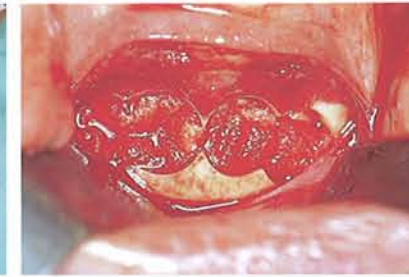
1-3 トレフィンバーにて骨切削後、皮質骨および海綿骨を採取。



1-4 骨採取窩にPRPを填入（治癒促進、感染予防の目的）。



1-5 スポンゼルにPPPをしみ込ませる。



1-6 骨採取窩にPPP スポンゼルを充填（血餅形成および止血の目的）。



1-7 深部を吸収性糸で縫合後、さらに表層部を緊密に縫合する。



1-8 採取した自家骨（約4cc）。



1-9 ボーンミルを用いて適切な大きさに骨を粉碎する。



1-10 粉碎後の自家骨。



1-11 PRPを作用させて、操作性の良いゲル状のボーンペーストを作成。



1-12 サイナスリフト施術部の切開線。



1-13 長さ20mmのフィクスチャーを埋入予定のため、ゲージの上端（骨頂から20mm）までの上顎洞粘膜の挙上および骨充填が必要である。



1-14 ラウンドバー、フィッシャーバーを用いて、ボニードアの形成を行う。



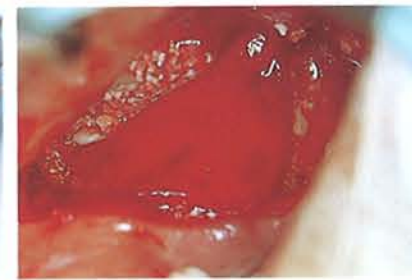
1-15 十分に上顎洞粘膜を剥離・挙上し、PRPを混入した移植骨を填入する。



1-16 しっかりと移植骨をコンデンスし、緊密に充填することが肝要である。これにより、骨密度の高い、良質な骨の再生が可能になる。



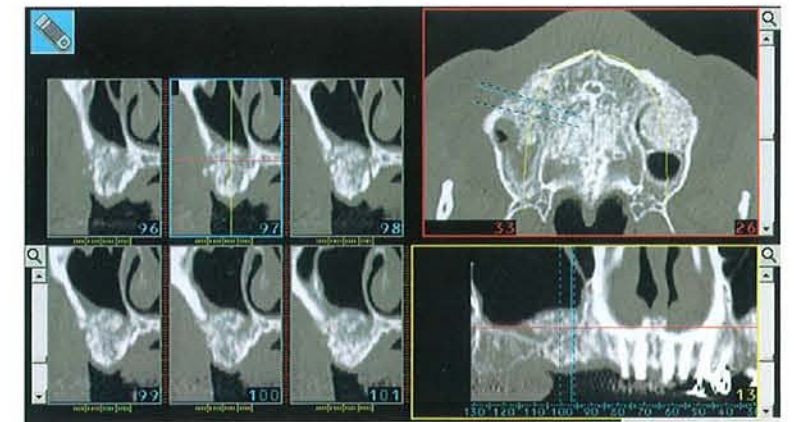
1-17 PRPを少量シャーレに塗布。数分後、柔らかいゴム状の膜ができる。



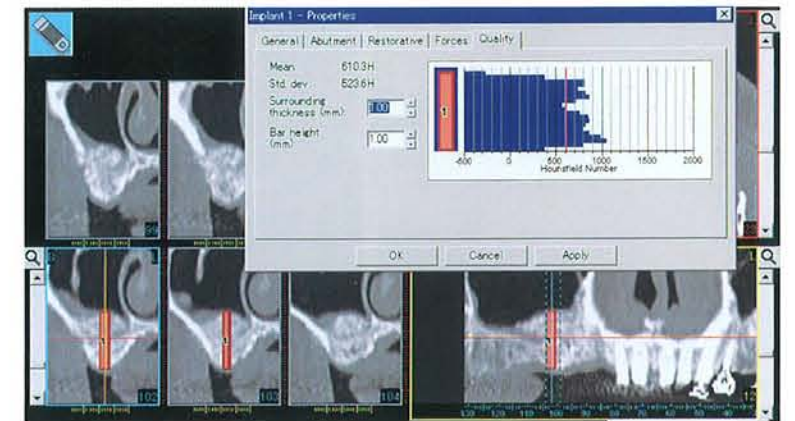
1-18 PRP膜を吸収性メンブレンの代わりに使用した。メンブレンの露出や血行の遮断などによる術後感染のリスクはない。



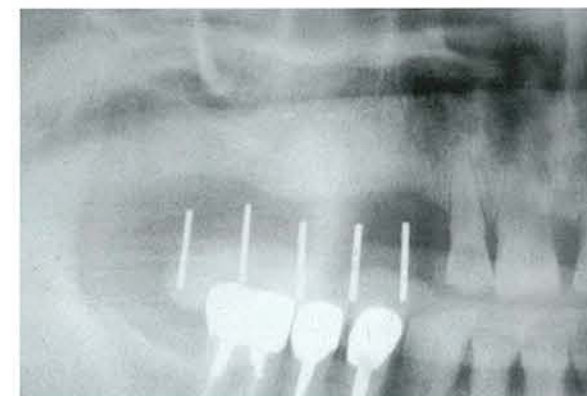
1-19 緊密に縫合を行う。



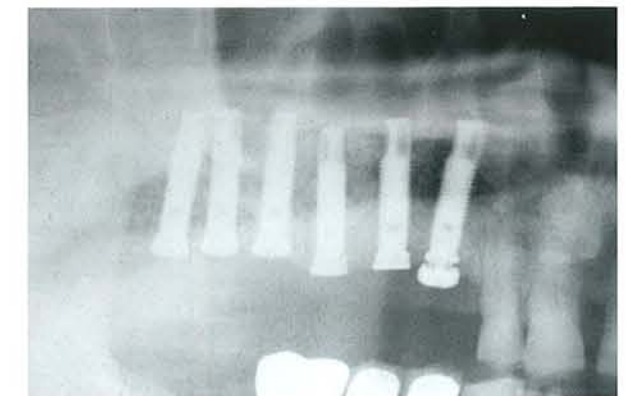
1-20 術後。



1-21 術後5カ月後のSimPlant画像。長さ20.0mmのインプラントが埋入可能であり、また移植された部分の骨質は、Hounsfield Numberが900で非常に良好である。



1-22 サージカルステント装着時のパントモX線写真。



1-23 インプラント埋入後の状態。

●Case 2 抜歯窩への応用による歯槽堤増生術



2-1 術前X線写真.



2-2 術前の口腔内前方面観.



2-3 2+2が保存不可能なため抜歯された.



2-4 抜歯後の状態、著しい頬側の骨吸収が認められる.



2-5 第二大臼歯遠心部の下顎枝レトロモラーパッド付近より骨を採取、その後、骨採取窩にPRPを填入、PPPスポンゼルを充填、縫合.



2-6 採取した自家骨.



2-7 PRPを混入、作用させる.



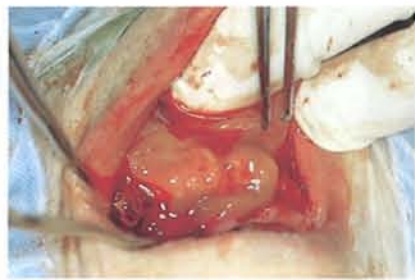
2-8 数分後、操作性の良いゲル状のボンペーストになる.



2-9 抜歯窩にPRPボンペーストを填入、同時に頬側骨欠損部の水平的、垂直的骨造成を行った.



2-10 PRPメンブレンの作成.



2-11 PRPメンブレンの設置.



2-12 十分な減張切開を行った後、緊密に縫合する.



2-13 術後10日目の状態、切開線はほぼ消失し、術後感染のない良好な治癒が得られている.



2-14 術後X線写真.

●Case 3 埋入時骨欠損への応用



3-1 術前X線写真.



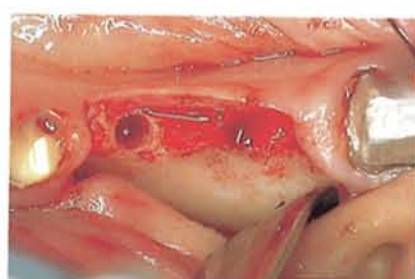
3-2 術前咬合面観、頬舌的(水平的)に骨量が不足している.



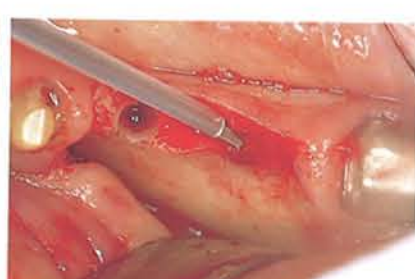
3-3 切開線、やや舌側寄りに歯槽頂切開を行う.



3-4 骨膜まで剥離した状態、実際に相当量の頬舌幅の骨の不足が確認できる.



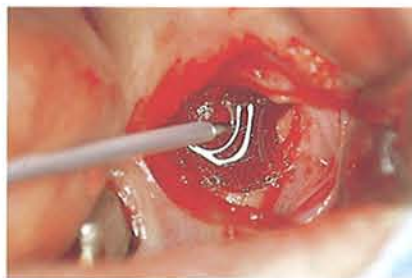
3-5 インプラント窩の形成.



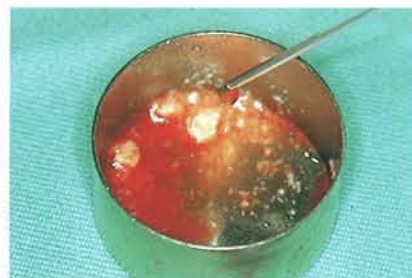
3-6 インプラント窩にPRPを注入.



3-7 フィクスチャー埋入後、頬側の骨量が不足している。



3-8 第二大臼歯遠心部の下顎枝レトロモラーパッド付近より骨採取後、骨採取窩にPRPを填入、この後、PPPスポンゼルを充填、縫合。



3-9 採取した骨にPRPを混入、作用させる。



3-10 数分後、餅状のボーンペーストになる。



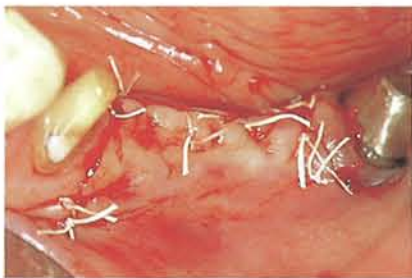
3-11 インプラント埋入後の頬側骨欠損部にPRPボーンペーストを設置、TRメンブレンを用いなくても、十分なスペースメイキングが可能。



3-12 PRPによるメンブレンの作成。



3-13 PRPメンブレンの設置。



3-14 十分な減張切開を行った後、歯肉を緊密に縫合する。



3-15 術後X線写真。



IV 考 察

PRPを使用することによって、通常の方法に比べ迅速で効果的な骨再生がもたらされる。これは、PDGFとTGF- β のみならず、他の成長因子やいまだ確認されていない蛋白質が濃縮された状態で用いられた結果によるものである。

この方法は自己血を使用するので、患者に感染症を引き起こすリスクはない。また、PRPは手術時に作成・用意するので、万が一にも検体を間違える可能性はない。

成長因子を使用することは、無歯顎患者や著しく萎縮した上顎骨、骨粗鬆症患者、およびそれまでの歯科疾患の影響で癒痕組織化していたり組織が変質している場合などの、骨移植と骨結合型インプラントの成功率が低い典型的な症例において、特に有用性が期待される。

今後は、異なった成長因子の適切な濃度を決定し、またPRPの中に存在する創傷治癒と骨形成の場におけるこの療法のさらなる有用性を明らかにし、たしかに臨床術式として定着させるためにも、他の成長因子について解明することをはじめとした継続的な研究が必要である。

今後研究開発が進むにつれ、臨床応用の範囲が拡大していくと考えられる。いずれにしても分子生物学(Molecular biology)をチェアサイドで臨床応用可能な時代が到来した。今後とも、臨床研究を進めていきたい。

引用文献

- 1) Committee on Research, Science, and Therapy of the American Academy of Periodontology: The potential role of growth and differentiation factors in periodontal regeneration. *J. Periodontol.*, 67: 545-553, 1996.
- 2) Marx, R.E., Carlson, E.R., Eichstaedt, R.M. et al.: Platelet-rich plasma. Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral*

- Radiol. Endod.*, 85: 638-646, 1998.
- 3) Lynch, S.E., Nixon, J., Colvin, R.B., Antoniades, H. N.: Role of platelet-derived growth factor in wound healing. Synergistic effects with other growth factors. *Natl. Acad. Sci. USA*, 84: 7696-7700, 1987.
- 4) Pierce, G.F., Tarpley, J., Yanagihara, D. et al.: PDGF-BB, TGF-B1, and basic FGF in dermal wound healing: Neovessel and matrix formation and cessation of repair. *Am. J. Pathol.*, 140: 1375-1388, 1992.
- 5) Centrella, M., Massague, J., Canalis, E.: Human platelet-derived transforming growth factor-B stimulates parameters of bone growth in fetal rat calvariae. *Endocrinology*, 119: 2306-2312, 1986.
- 6) Mohan, S., Baylink, D.J.: Bone growth factors. *Clin. Orthop.*, 263: 30-43, 1991.
- 7) Giannobile, W.V., Finkelman, R.D., Lynch, S.: Comparison of canine and nonhuman primate animal models for periodontal regenerative therapy: Results following a single administration of PDGF/IGF-1. *J. Periodontol.*, 65: 1158-1168, 1994.
- 8) Wang, H-L., Pappert, T.D., Castelli, W.A. et al.: The effect of platelet-derived growth factor on the cellular response of the periodontium: An autoradiographic study on dogs. *J. Periodontol.*, 65: 429-436, 1994.
- 9) Lynch, S.E., Trippel, S.B., Finkelman, R.D. et al.: The combination of platelet-derived growth factor and insulin-like growth factor I stimulates bone repair in adult Yucatan miniature pigs. *Wound Rep. Reg.*, 2: 182-190, 1994.
- 10) Dennison, D.K., Vallone, Dr. Pinero, G.J. et al.: Differential effect of TGF-B1 and PDGF on proliferation of periodontal ligament cells and gingival fibroblasts. *J. Periodontol.*, 65: 641-648, 1994.
- 11) Howell, T.H., Fiellini, J.P., Paquette, D.W. et al.: Evaluation of platelet-derived growth factor-BB/purified insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *J. Dent. Res.*, 74: 253, Abstract 1039, 1995.
- 12) Howell, T.H., Fiellini, J.P., Paquette, D.W. et al.: A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *J. Periodontol.*, 68: 1186-1193, 1997.
- 13) Arbes, H., Bosch, P., Salzer, M.: First clinical experience with homologous cancellous bone grafting, combined with fibrin adhesive system (FAS). *Arch. Orthop. Trauma Surg.*, 98: 183-188, 1981.
- 14) Bosch, P., Lintner, F., Arbes, H., Brand, G.: Experimental investigations of the effect of the fibrin adhesive on the Kiel heterologous bone graft. *Arch. Orthop. Trauma Surg.*, 96: 177-185, 1980.
- 15) Meyers, M.H., Herron, M.: A fibrin adhesive seal for the repair of osteochondral fracture fragments. *Clin. Orthop.*, 182: 258-263, 1984.
- 16) Garg, A.K.: A comparison of extraction socket healing with and without PRP. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, submitted.
- 17) Marx, R.E., Garg, A.K.: Bone graft physiology with use of platelet-rich plasma and hyperbaric oxygen. In: Jensen, O.T. (ed.): *The Sinus Bone Graft*, 183-189, Quintessence, Chicago, 1999.