

急速破壊型股関節症の病態におけるマクロファージ遊走阻止因子 (MIF) の関与

北海道大学大学院医学研究科運動機能再建医学分野

小野寺 伸、安田 和則

北海道大学大学院医学研究科整形外科学分野

井上 正弘、大浦 久典、真島 任史

我汝会えにわ病院整形外科

春藤 基之、管野 大己、増田 武志

はじめに

急速破壊型股関節症 (RDC) は1970年にPostelらによって報告された、正常な股関節から6ヶ月から12ヶ月で急速に関節の破壊を来す疾患群である¹⁾。その原因については様々な検討がなされているが、未だ不明な点が多い。股関節の生体力学的因子の関与や骨粗鬆症の関与が指摘されているが²⁾、一方Matrix metalloproteinase (MMP)等の蛋白分解酵素濃度の上昇を認め、免疫系の関与を示唆する報告もある³⁾。

マクロファージ遊走阻止因子 (MIF) は、1966年に生理活性が発見されたリンホカインである⁴⁾。1989年にヒトcDNAがクローニングされて以来敗血症性ショック、ガンの細胞増殖、RAをはじめとした自己免疫疾患などへの関与が解明されている。その産生細胞はマクロファージ、Tリンパ球を始め幅広く、interleukin (IL)-1, tumor necrosis factor (TNF)- α 等炎症性サイトカインの産生を促す上流型サイトカインであると認識されている。またMIFは変形性関節症 (OA) および関節リウマチ (RA) 滑膜細胞に作用しMMP-1の産生を

促す。われわれはMIFがin-vitroで滑膜細胞や骨芽細胞に作用し、MMP-1、-3、-9、-13の産生を誘導することを報告した^{5,6)}。

またMIFを過剰に発現するトランスジェニックマウスは生後早期より高回転型骨粗鬆症を呈し、骨組織においてRANKL, MMP-3, -9, -13mRNAの高発現を伴っている⁷⁾。

このようにMIFの作用はin-vivoでも明確に認められる。そこで炎症反応の上流型サイトカインMIFが、RDCの病態に関与しているのではないかと仮説を立てた。本研究の目的は、1) RDCの病態におけるMIFの発現と局在を検討する、2) この発現と、従来指摘されているMMPsの発現・局在との関連につき検討する、3) RDCの病態に関し従来指摘されているアラインメント異常 (骨盤後傾) の有無を検討し、これと上記液性因子との関連に関し考察することである。

方 法

対象は、北大病院および我汝会えにわ病院において2004年から2年間にRDCと診断

され人工股関節置換術 (THA) を施行した患者12名である。術前X線パラメータとしては9名に骨盤後傾度および大腿骨頸部の骨粗鬆症を評価した。前者は土井口らの方法に準じ8) 骨盤扁平率より算出した骨盤傾斜角、仙骨傾斜角、および腰椎前彎角を計測した (図1)。後者はSinghの分類に従った。

手術時に採取したRDCの骨頭・滑膜を用いてMIF, MMP-9の免疫染色を行った。またMIF, MMP-9, MMP-1 mRNAの発現をRT-PCRないしはRT-PCR サザン法にて検討した。コントロールとして二次性OAの骨頭・滑膜を用いた。用いたプライマーは human MIF; forward 5'-TTC ATC GTA AAC ACC AAC GTG-3', reverse 5'-TGC TGT AGG AGC GGT TCT G-3', プロダクトサイズ 223bp, human MMP-9; forward 5'-TCC AGT ACC GAG AGA AAG CC-3', reverse 5'-TAC CAG TTT GTA TCC GGC AA-3', 219bp, human MMP-1; forward 5'-GGG ACA GAA TGT GCT ACA CG-3', reverse 5'-GCC AAT TCC AGG AAA GTC AT-3', 213bpである。

結 果

1. X線計測

えにわ病院において2002年から2003年にprimary THAを施行した500例の術前計測データを骨盤傾斜角のコントロールとした。RDCは骨盤傾斜角平均30.1度、仙骨傾斜角16度と有意に骨盤後傾を示し、腰椎前彎角も17.3度と後彎を示した。またSingh indexでgrade2が3名、grade3が4名、grade4が1名とほとんどは明らかな骨粗鬆症を示した (表1)。

2. 免疫染色

RDCの多くの症例の滑膜lining cellに

おいてMIF, MMP-9の局在を認めた(表2)。

3. PCR

滑膜組織と骨頭のMIF mRNAの発現をRT-PCRサザン法にて検討したところ、滑膜のMIF発現はRDCではOAに比べ明らかに亢進していた。骨頭ではRDC,OAともに発現し、その差はあまり明確ではなかった (図2 A,B)。同様に滑膜におけるMMP-1, -9 mRNA発現を検討したところ、MMP-1, -9ともにRDCではOAとくらべ明らかに亢進していた (図3)。

症 例

73歳女性。主訴は右股関節痛で、経過は平成14年3月 右股関節痛が出現。近医を受診し一次性股関節症の診断であったが10月 転倒し疼痛増悪、平成15年1月 歩行不能となり北大整形紹介初診・入院した。入院時データは白血球5,400 μ l, CRP陰性、赤沈値 14mm/1h, 38mm/2h, リウマチ因子陰性であった。

X線上近医初診時は右の一次性股関節症を呈していたが、10ヶ月後のレントゲンで急速な骨頭の破壊を認める。MRI上骨頭骨髄内輝度変化および関節水腫を認め、CT上多数の嚢胞性変化を認める。骨粗鬆症はgrade4である (図4)。骨頭は軟骨の変性と骨梁の破断を認める。MIFの免疫染色では局在は明確ではない。また骨頭の骨梁においてMMP-9の陽性細胞は同様に明確ではない (図5)。滑膜は細胞の増生、血管新生、破壊骨片の取り込みを認める。免疫染色では滑膜細胞において細胞質内にMIFが明瞭に陽性である。同様に、増生した滑膜細胞の細胞質内にMMP-9が陽性である (図6)。コントロールの二次性OAの滑膜細胞ではMIF, MMP-9はほとんど染色されない (図7)。

考 察

RDCの病因を文献的に考察すると、山田らは初期にMRI上骨頭荷重部に sub-chondral microfractureの所見が示唆されること⁹⁾、渡部らはRDC患者は仙骨傾斜角30°未満、頸部の骨粗鬆度がSingh grade4以下が大部分であり、これらの数値が予測因子となると報告している²⁾。一方、RDC関節液中の炎症性サイトカインの存在¹⁰⁾、培養滑膜細胞のMMP-1、-3、-9、TIMP-1産生はRDCがOAより有意に多いという、生物学的因子の関与も指摘されている³⁾。稲尾らは生検材料として変性の最終像しか得らず所見が原因か結果か判断としない危惧を述べている¹¹⁾。

本検討でも、多くの症例で骨盤後傾と骨粗鬆症を示し、渡部らの報告を裏付ける結果であった。また一方、滑膜組織において従来言われたMMPの発現亢進とともにMIFの発現亢進も明らかに認め、関節炎・関節破壊にMIFが何らかの形で関与していると推測される。しかしRDCは滑膜の疾患と言うより骨頭の破壊が先行するとする認識が一般的であり、かつ骨頭でのMIFの発現は顕著でなかったことを考慮すると、MIFの発現は骨頭破壊に引き続き起こる滑膜炎のイニシエーターと考えるのが妥当であろう。病態であるが、まず骨粗鬆症が基盤にあり、骨盤後傾が加わって骨頭の破壊が始まると考えられる。この際の骨頭からの出血や骨片による滑膜への刺激によりMIFが産生され、これをイニシエーターとして炎症性カスケードのストーミングが起り最終的にMMPが産生され破壊が加速されることが推測される(図8)。

結 語

RDC滑膜においてMIFは増生した滑膜細胞に陽性であり、MMP-9陽性細胞と局在がおおむね一致している。またRDCの破壊骨頭におけるMIF、MMP-9の発現はさほど顕著ではない。これらの患者群において骨盤後傾および骨粗鬆症を認め、その発症にはアラインメント異常、力学的脆弱性による骨頭破壊の開始、引き続き起こるMIF、MMPsの滑膜での産生と更なる骨破壊のカスケードが推測される。

謝 辞

本研究に対し、助成をしていただきました日本股関節研究振興財団に深謝いたします。

文 献

- 1) Postel M, et al. Total prosthetic replacement in rapidly destructive arthrosis of the hip joint. Clin Orthop 72:138-144, 1970.
- 2) 渡部亘ほか：急速破壊型股関節症の発症関連因子に関する検討. Hip Joint 26: 147-151, 2000.
- 3) Masuhara K, et al. : Significant increases in serum and plasma concentrations of matrix metalloproteinases 3 and 9 in patients with rapidly destructive osteoarthritis of the hip. Arthritis Rheum. 2002 Oct;46(10): 2625-31
- 4) Bloom BR, et al.: Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity. Science 153:80-82, 1966.
- 5) Onodera S, et al. : Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) Up-

regulates Expression of Matrix Metalloproteinases in Synovial Fibroblasts of Rheumatoid Arthritis. J Biol Chem 275, 444-450, 2000.

- 6) Onodera S, et al.: Macrophage Migration Inhibitory Factor Up-regulates MMP-9 and -13 in Rat Osteoblasts. Relevance to Intracellular Signaling Pathways. J Biol Chem 277, 7865-7874, 2002.
- 7) Onodera S, et al.: Transgenic Mice Overexpressing Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) Exhibit High-Turnover Osteoporosis. J Bone Min Res 21, 876-885, 2006
- 8) 土井口祐一ほか：X線学的骨盤腔形態と骨盤傾斜角。整形外科と災害外科 41：641-645, 1992
- 9) 山田晋ほか：急速破壊型股関節症 (RDC) の発症早期のMRI所見の検討。Hip Joint 25:297-301, 1999.
- 10) Komiya S, et al. : Rapidly destructive arthropathy of the hip - Studies on bone resorptive factors in joint fluid with a theory of pathogenesis. Clin Orthop 284:273-282, 1992.
- 11) 稲尾茂則ほか：急速破壊型股関節症の初期像と考えられた股関節病変の1例。Hip Joint 25:292-296, 1999

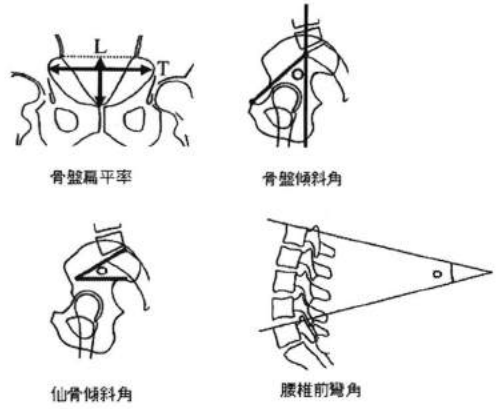


図 1. 術前 X 線計測パラメーター

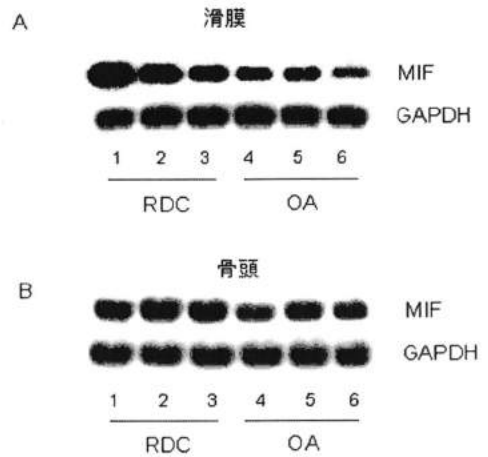


図 2. RDC と二次性 OA における MIF mRNA の発現 A. 滑膜組織 B. 骨頭

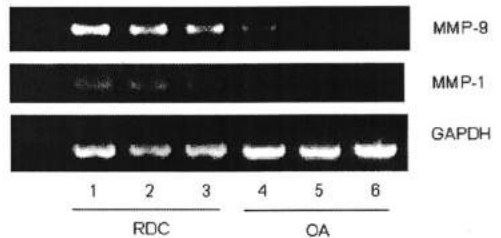


図 3 RDC と二次性 OA の滑膜における MMP-9, -1 mRNA の発現

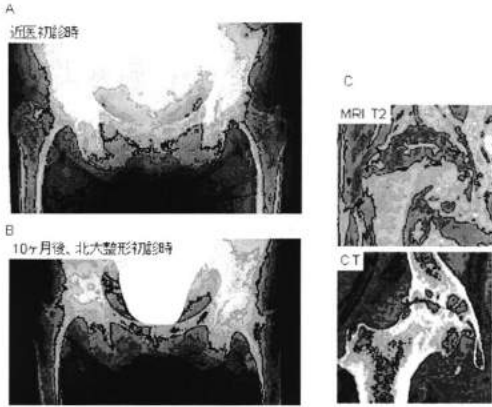


図4. 74歳女性。A. 近医初診時。B. 10ヶ月後。C. MRI T2強調像およびCT

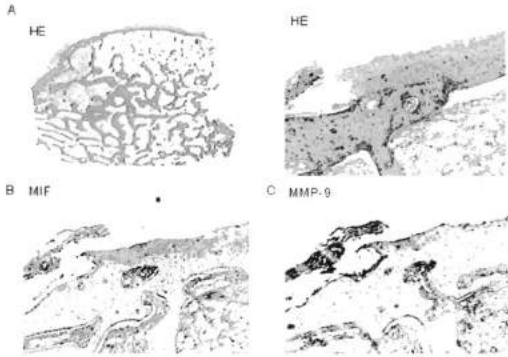


図5. RDC骨頭の組織像。A. HE染色 B. MIF免疫染色 C. MMP-9免疫染色

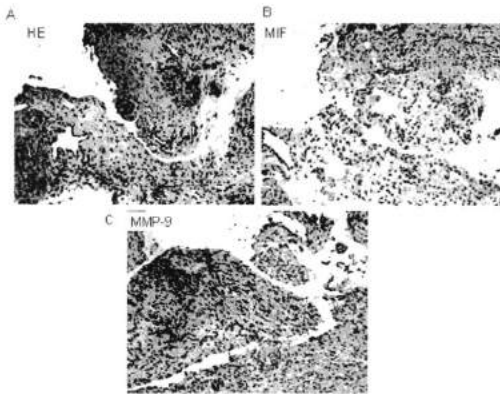


図6. RDC滑膜の組織像。A. HE染色 B. MIF免疫染色 C. MMP-9免疫染色

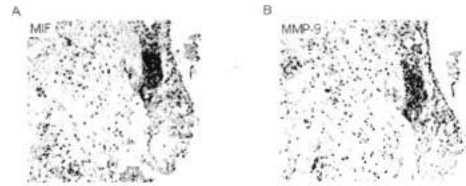


図7. 二次性OAの滑膜免疫染色 A. MIF免疫染色 B. MMP-9免疫染色

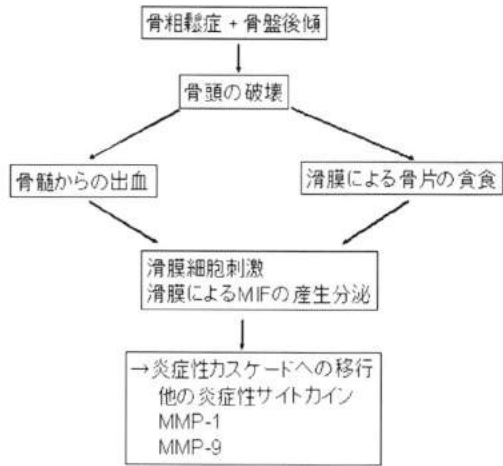


図8. 二次性OAの滑膜免疫染色

表 1 術前 X 線計測パラメーター

| | RDC n=9 | control n=500 | p-value | 健常値 |
|---|-------------------|------------------|---------|------------|
| 骨盤扁平率 (%) (L/T) | 48.2 ± 14.0 | | | |
| 骨盤傾斜角 (°) (PIA) | 30.1 ± 12.2 | 19.0 ± 8.3 | <0.01 | 20 (45 歳) |
| 腰椎前彎角 (°) (LLA) | 17.3 ± 9.6 | | | 26 ± 5 |
| 仙骨傾斜角 (°) (LSA) | 16.0 ± 8.2 | | | 41.1 ± 7.7 |
| Singhs index grade 2 grade 3 grade 4 | 3 人 5 人 1 人 | | | |

表 2 免疫組織学的所見

| | RDC 1 | RDC 2 | RDC 3 | RDC 4 | RDC 5 | OA 1 | OA 2 | 主な陽性細胞 |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|------------------------------------|
| 骨頭 MF | - | ± | ± | - | - | - | - | |
| 滑膜 MF | + | + | ++ | ++ | + | - | ± | lining cell endothelial cell |
| 滑膜 MMP -9 | + | + | ++ | + | + | - | ± | lining cell |