

## 弛緩人工関節での Macrophage の役割について

名古屋大学整形外科 国立名古屋病院整形外科

○石黒直樹 (いしぐろなおき)、  
伊藤隆安、小嶋俊久、安間英毅、  
岩瀬俊樹、岩田 久

[伊丹] では次は名古屋大学医学部の石黒先生にお願いいたします。

[石黒] 私の研究は人工関節がなぜ弛むかの問題を生物学的に明らかとしようとするものです。具体的には人工関節の手術を行って患者さんに10年、20年もつと保証したにもかかわらず、早く壊れてしまうのはなぜだろうかという問題を考えた研究です。人工関節の Implant はセメントを使用の場合にはセメントを介して骨と接します。骨には基質としてコラーゲンとプロテオグリカンが存在することがわかっております。

人工股関節の再置換時に検体を白蓋側の interface tissue より得てこれを分析しました。研究方法として、各種分解系酵素、阻害物質、及びサイトカインのメッセンジャーRNA発現を調べました。また免疫組織染色と電顕にて、細胞のキャラクターを調べました。

組織破壊が何故起こるかという問題について各種の Matrix metalloproteinase(MMP) という分解系の酵素とその阻害物質 (TIMP) の役割が明らかになっています。MMP の mRNA の発現を調べました。この検討では患者白蓋側の interface tissue の分析で MMP-3 をはじめとして MMP-1、2、9 等の多くの分解系酵素の産生がみとめられました。特に MMP-9 は特定の患者さんに非常に強く出る傾向がありました。MMP-9 は多く Macrophage を始めとする炎症系の細胞が産生すると考えられ、又、破骨細胞も多量に作り出す事

が解かっています。MMP-9 が特定の患者に強く出るということは今後の研究課題として興味ある知見と思います。

MMP と TIMP の mRNA 発現を表にしたものです。(表1)

人工関節の組織というのは非常に不均質なものですから、無作意に3箇所から検体を得、それぞれを分析しました。従って1人の患者さんから3箇所ずつ検体が得られました。MMP-1 はコラーゲンを主として分解します。MMP-3 mRNA は非常に多く出現していました。MMP-9 が特定の患者に強く発現していた事により次の仮説をたてて研究を行いました。

Implant、あるいはセメントと骨の間に interface tissue 即ち肉芽組織が増生すると骨組織を破壊し、人工関節のゆるみにつながります。肉芽組織の増大に関わって、炎症性細胞の浸潤を促す物質の存在とそれを介して炎症性細胞即ち Macrophage monocyte 系細胞の組織への遊走という機序を考えました。それを明らかとする目的で次の研究を行いました。

Tumor Necrosis Factor(TNF)- $\alpha$ 、IL-1 という代表的な炎症性サイトカインについてはすでに人工関節の interface tissue の発現がみられるという報告は多数有ります。私達もそれを追試し、確認しました。

IL-1  $\beta$  の発現はよく認められました。

表 1

Expression of MMPs mRNA					
Patients	MMP-1	MMP-2	MMP-3	MMP-9	MMP-10
1	1/3	1/3	2/3	1/3	0/3
2	2/3	2/3	2/3	2/3	0/3
3	3/3	2/3	3/3	3/3	0/3
4	3/3	2/3	1/3	2/3	0/3
5	2/3	2/3	1/3	0/3	0/3
6	2/3	3/3	3/3	1/3	0/3
7	2/3	1/3	2/3	1/3	0/3
8	3/3	3/3	2/3	3/3	0/3
9	2/3	0/3	2/3	0/3	0/3
Subtotal	20/27	16/27	19/27	13/27	0/27

代表的な炎症性サイトカインであるIL-1 $\beta$ とTNF- $\alpha$ この事から非常に高い頻度で発現している事を認めました。これは従来の研究と一致する知見でした。これら炎症性サイトカインはMacrophageをはじめとする炎症性細胞を刺激して炎症を起こし組織破壊を引き起こすであろう事は理解されます。そこでこれら炎症性細胞が組織中へ浸潤する機序を考えました。

研究から明らかになったケモカインというサイトカインのファミリーに注目しました。最近のケモカインの特徴は、Macrophageや好中球といういわゆる炎症性細胞を組織中へ呼び込むための非常に強い活性をもつ物質であることです。組織中のケモカインの発現は炎症性細胞の浸潤を促し、炎症の発生及び持続に関与すると考えられます。このケモカインに注目してそのケモカインの発現を調べました。

#### Macrophage Chemoattract protein(MCP)-1

IL-8(Macrophageによって産生され好中球に対して強い遊走活性を持つ物質)、MIP-1 $\beta$ 、およびMIP-1 $\alpha$ のmRNAの発現を調べ、多くの患者interfuce組織中に発現している事を認めました。これを表にして示します(表2)

以上よりこれらケモカインがinterfuce tissueで産生されていることを考えました。次に、Macrophage/monocyte系細胞の発際の役割を組織学的に検討しました。免疫組織染色によって細胞のマーカーを染色し、電顕を用いて細胞内小器官を検討しました。

血管内局に発現するICAM-1、と結合する事によってLFA-1陽性の細胞は血管の外へ遊走することが解かっています。LFA-1陽性の細胞が組織中に認められたことから、この細胞はおそらくどこかの血管を通して組織中に遊走したものと考えられます。そして

表2

Detection of mRNA for Cytokines in the interface tissue.							
Patients	mRNA for						
	IL-1 $\alpha$	IL-1 $\beta$	TNF $\alpha$	MCP-1	IL-8	MIP-1 $\alpha$	MIP-1 $\beta$
1	0/3	2/3	3/3	3/3	2/3	1/3	3/3
2	0/3	3/3	1/3	3/3	3/3	2/3	1/3
3	1/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
4	0/3	3/3	2/3	3/3	3/3	3/3	3/3
5	1/3	2/3	2/3	3/3	2/3	0/3	2/3
6	1/3	3/3	2/3	3/3	2/3	2/3	3/3
7	0/3	3/3	3/3	3/3	3/3	2/3	2/3
8	1/3	2/3	2/3	2/3	3/3	2/3	3/3
9	1/3	3/3	3/3	3/3	2/3	3/3	3/3
<b>Subtotal</b>	<b>5/27</b>	<b>24/27</b>	<b>21/27</b>	<b>26/27</b>	<b>23/27</b>	<b>18/27</b>	<b>23/27</b>

これはLFA-1陽性細胞の細胞質内には人工関節が弛んでくる過程で生じる磨耗粉が貪食されているのが観察されました。

又、別の切片では人工関節の磨耗により生じたと考えられるプラスチック片とそのプラスチック片をとり囲む巨大な異物性の巨細胞が観察されました。その巨細胞はLFA-1陽性で、巨細胞はおそらく末梢血管中より遊走した細胞が形成したものであろうと考えました。

電顕を用いて細胞内部を観察しました。Macrophage系の細胞による貪食された磨耗粉が観察されました。そしてこれら細胞は核が非常に大きく、細胞内の小器官での旺盛な蛋白又はサイトカイン等の合成を疑わせる所見がみられました。よって磨耗粉というごみを細胞が貪食しつつ、一方で多くの物質を産生している像であると考えられました。

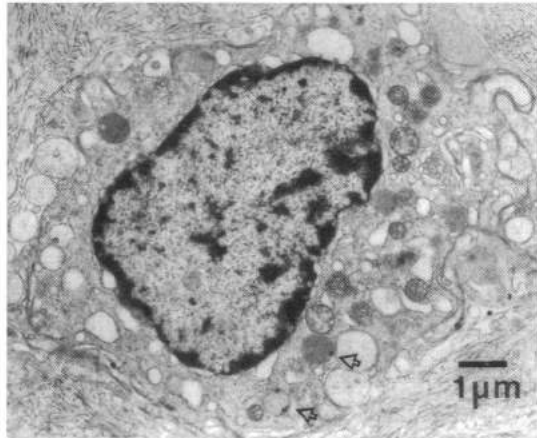


図1

血管との関連では、Macrophage/monocyte系細胞が血管内に観察され、一方では血管外に観察される像が得られました。この血管外へ出た細胞は2つ異物片をすでに貪食していました。この像より血管中にある白血球がケモカインの作用により血管外へ遊走し、組織

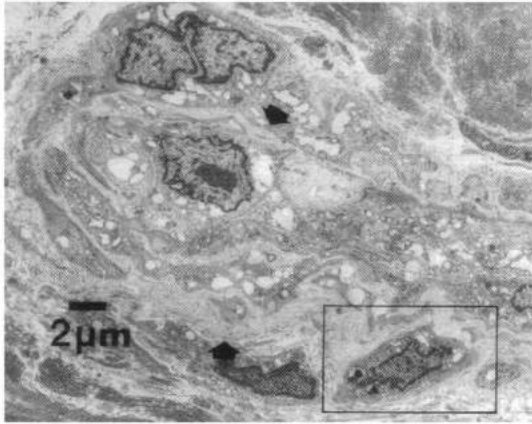


図 2

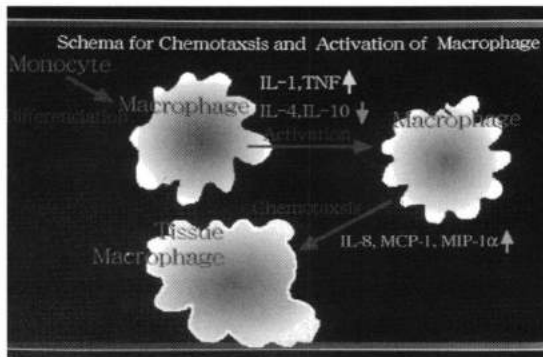


図 3

中でそこに存在する磨耗粉を貪食する図 2。磨耗粉を貪食した細胞はその他方でどんどんいろいろな分解系酵素又はサイトカイン、ケモカインを産生し次の炎症細胞を遊走させ、活性化する。かくしてこういう機序を経て人工関節の弛みというのは慢性化していくのではないかと考えました。

これを図式化しますと、monocyte、Mac

rophage 系の細胞は刺激によって Macrophage といって貪食能を持つ細胞に変化します。そしてそれが血管外へ遊走して組織 Macrophage になります。そして血管外へ出た Macrophage がそこで貪食を行い、組織 Macrophage としてケモカイン、サイトカイン、MMPをつくる。そうするとそのケモカインがもう一度また別の Macrophage を呼び込むことに関係するという構図です。こうしてどんどん新しい炎症性細胞が組織中へ遊走し、慢性化すると考えました。図 3

まとめ

人工関節の弛みを発生させる要因の 1 つとして生体の反応が考えられます。そしてその生体の反応を起こす原因は人工関節で生じた磨耗粉であろうということ。しかもその直接となる interface での問題というのは異物性肉芽腫 CPS 磨耗粉が起こす炎症性細胞浸潤、それにともなう肉芽形成であろうと考えました。

現在これは患者さんの組織を分析して得た 1 つの状況証拠にすぎません。それをさらに確定するために現在第 2 段階として患者さん、あるいは動物からとってきた細胞レベルでほんとうに現在みた状況証拠が正しいかどうかを検証しております。ですからいつの日かまたその結果をお知らせできると思います。

[伊丹] どうもありがとうございました。特にご質問がありましたら。ありませんようです。どうもありがとうございました。