

学位論文の要旨

学位の種類	博 士	氏 名	平山 光久
<p>学 位 論 文 題 目</p> <p>Osteoprotegerin Expression is Suppressed in Human Periprosthetic Joint Fluid</p> <p>(人工関節置換術後の関節液中にて Osteoprotegerin 濃度は減少している)</p> <p>共著者 John C. Clohisy 未 公 表</p> <p>研 究 目 的</p> <p>インプラント周囲に発生する骨溶解(オステオライシス)は骨欠損や弛みを生じるため、人工関節寿命に大きな影響を与える。インプラント磨耗粉は貪食され、骨髄内の貪食細胞・ストローマ細胞・骨芽細胞などで種々のサイトカイン(IL-1, IL-6, RANKL, TNF-α)が産生され炎症反応や破骨細胞の分化・活性化が生じると報告されている。また、RANKL(receptor activator of NF-kB ligand)とそのレセプターRANKの欠損マウスはともに大理石病を示し、RANKLとそのデコイレセプターのOPG(osteoprotegerin)は骨吸収で重要な役割を果たしていると思われる。我々は以前にマウス全骨髄細胞培養にて polymethylmethacrylate(PMMA) particle 刺激で破骨細胞が形成され、particle 濃度依存性に RANKL 蛋白発現と破骨細胞数が上昇すること、また OPG により破骨細胞形成を抑制することを示してきた。本研究の目的は人工関節内の関節液中に含まれる炎症性サイトカインと RANKL/OPG 分子の発現を調べ、生体内でその役割を検討することである。</p> <p>材 料 ・ 方 法</p> <p>人工膝または股関節置換・再置換術予定患者 47 名より関節液を無菌的に採取し ELISA(enzyme-linked immunoassay)法により、RANKL, OPG, IL-1β, IL-6, TNF-α の蛋白発現量を測定した。関節炎 15 患者を Group I、骨溶解なく(骨吸収エリアはレントゲン上 1cm²未満)再置換術する 15 患者を Group II とした。骨溶解のため再置換術する 17 患者を Group III、再置換術 32 患者を Group IV (II and III) とした。統計分析は paired t-test を行い、危険率 5% を有意水準とした。</p>			

成 績

RANKL 発現量はすべてのグループでほぼ同値であったが、OPG 発現は Group I に比較し、Group II と Group III では明らかに減少していた ($p < .0001$)。Group I では IL-1 β は発現しておらず、Group II と比較すると Group III は著明に上昇していた ($p < .0001$)。IL-6 発現量は Group I, II と比して Group III は明らかに上昇していた ($p < .0001$)。TNF- α の Group III 発現レベルは Group I に比較すると 2 倍に上昇していた。実際の生体関節内では RANKL/OPG は OPG で調節されており、他の炎症性サイトカインは骨溶解の進行程度に相関して発現量が上昇していた。

考 案

In vitro 培養系においては、マウスの破骨細胞前駆細胞 (単球) や脾細胞は、ストローマ細胞や骨芽細胞とビタミン D の存在下に破骨細胞様細胞に形成を促進される。この共培養系ではビタミン D のほかにも副甲状腺ホルモンや炎症性サイトカインがそれぞれ骨芽細胞などの RANKL 発現を促進し破骨細胞の分化・成熟に関わることが明らかとなっている。今回生体関節内では RANKL-RANK シグナルは RANKL の発現量ではなくそのデコイレセプター OPG の発現量により調節されていることが認められた。つまり、正常関節内では OPG が発現しつづけることで関節内での骨吸収は妨げられているが、人工関節置換術後の偽関節包内では OPG 発現減少のため、RANKL-RANK 系を介して破骨細胞が容易に活性化されやすい状態にあると思われる。最近の知見では少量の RANKL 存在下で炎症性サイトカインが直接、破骨細胞の前駆細胞である骨髄由来マクロファージに作用することが示された。我々の結果では炎症性サイトカイン発現は骨溶解の進行程度との相関がみられ、RANKL-RANK 系との相乗効果で骨溶解が進行していると考えられる。今後の骨溶解治療として、関節内に高濃度の OPG 蛋白を発現させ RANKL-RANK 系を抑制するために、遺伝子導入または骨髄未分化間葉系細胞移植することが考えられる。

結 論

人工関節置換術後の偽関節液中では OPG 発現量は減少しており、RANKL-RANK 系を介して破骨細胞が容易に活性化されやすい状態にある。

引 用 文 献

Nivbrant B, Karlsson K, Karrholm J: Cytokine levels in synovial fluid from hips with well-functioning or loose prostheses. *J Bone Joint Surg Br* 1999; 81(1): 163-1666

Lam J, Takeshita S, Barker JE, et al: TNF-alpha induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J Clin Invest* 2000; 106(12): 1481-1488.

参 考 论 文

Clohisy JC, Frazier E, Hirayama T, et al: RANKL is an essential cytokine mediator of polymethylmethacrylate particle-induced osteoclastogenesis. *J Orthop Res* 2003; 21(2): 202-212.

Clohisy JC, Hirayama T, Frazier E, Han SK, and Abu-Amer, Y.: NF-kB signaling blockade abolishes implant particle-induced osteoclastogenesis. *J Orthop Res* 2004; 22(1): 13-20.

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士 (医学)	氏 名	平山光久
<u>審査委員長 吉田成孝</u> ㊞			
<u>審査委員 立野正敏</u> ㊞			
<u>審査委員 伊藤喜久</u> ㊞			
<u>審査委員 松野丈夫</u> ㊞			
学 位 論 文 題 目			
Osteoprotegerin expression is suppressed in human periprosthetic joint fluid (人工関節置換術後の関節液中にて Osteoprotegerin 濃度は減少している)			
<p>本論文は人工関節手術後の合併症であるインプラント周囲の骨融解について、関節液中の破骨細胞成熟分化・制御因子炎症性サイトカインの発現を調べたものである。</p> <p>本論文に用いられた手法は以下の通りである。人工膝または股関節置換・再置換術予定患者 47 人より関節液を採取し、ELISA 法にて receptor activator of NF-κB ligand (RANKL)、osteoprotegerin、IL-1β、IL-6、TNF-α のタンパク質量の測定を行った。患者群を臨床症状に応じて 3 群に分け、統計的に比較検討を行った。採取法および測定法は確立した手法により行われている。統計処理も Mann-Whitney test により適切に行われている。対象患者に対するインフォームドコンセント等の扱いも適切である。</p>			

これまで、培養細胞においては炎症性サイトカインにより RANKL 発現を促し破骨細胞の分化成熟にかかわる事が申請者らの研究により明らかとなっていた。今回の研究結果では、生体関節内では RANKL 発現量には有意な差はなく、osteoprotegerin の量が有意に減少していた。すなわち RANKL シグナルは RANKL そのものの量によるよりも、そのデコイリセプターである osteoprotegerin 発現量により破骨細胞が活性化されている事が示唆された。また、臨床症状に応じて IL-1 β 、IL-6、および TNF- α の発現も高くなる事が示された。

本論文によりインプラント骨溶解の機序の解明に新たな光を当てる事ができ、治療法開発への応用まで見据えた臨床的意義も認められる。

本論文は適切に構成され、適切な考察もなされている。

論文提出者に対して本論文および関連領域に関する試問に対し適切な応答が得られ十分な学力を有することが示された。

以上より、本審査委員会は本論文を学位論文として適切なものであると判断した。