

..論文内容の要旨

Effects of endoprosthesis head material on acetabular cartilage metabolism:

Animal study using crossbred pigs

人工骨頭置換術においてセラミック製骨頭が臼蓋の軟骨に与える影響:

豚股関節器官培養モデルを使用した実験

日本医科大学大学院医学研究科 整形外科

研究生 松 井 秀 平

Journal of Nippon Medical School vol.85 No.6 (2018) 掲載

人工骨頭置換術において、コバルトクロム（Co-Cr）を含む金属は頻繁に使用されているが組織に有害であるという報告が散見される。一方で、セラミックは生体組織に不活性であり、セラミックの骨頭の表面は Co-Cr と比較して滑らかであり、生体内において形状の変化は少ないという報告が見られる。しかし、セラミックを用いた人工骨頭置換術後の臼蓋の軟骨代謝に関する研究はない。

今回の研究の目的はセラミック製と Co-Cr 製人工骨頭を用いた人工骨頭置換術の器官培養モデルにおいて、培養液中の炎症反応関連サイトカインのタンパク量、ヒアルロン酸量、軟骨中の mRNA を測定し比較することである。培養液中の炎症関連サイトカインは MMP1・3、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF を ELISA を用いて測定し、さらにヒアルロン酸量を定量した。軟骨細胞の mRNA は I, II, III 型コラーゲン、アグリカン、TNF- α 、MMP1・3・13、IL-1 α 、IL-1 β を定量した。

実験材料として使用したのは 3 匹の交雑種豚の 6 つの臼蓋であり、カリウムの over dose 注射による殺処理の後臼蓋を取り出した。臼蓋の平均径は 26.3 +/- 0.6 mm であったので、26mm 径の Co-Cr 製とセラミック製骨頭を使用した。屠殺後直ちに、臼蓋に対して機械的負荷を Instron testing machine を用いて DMEM, 10%FBS, と 1% Penicillin を混合させた 37 度の培養液中で行った。臼蓋に 1 万回の圧縮(0.15~1.5KN)及び回旋($\pm 12^\circ$)負荷を加えた。1 万回の負荷試験の後、取り出した培養液中の炎症関連サイトカインのタンパク量とヒアルロン酸量を測定した。

臼蓋軟骨細胞の RNA 抽出は TRIspin 法により行った。すべての RNA の抽出は SYBR グリーン試薬を用いて試薬会社の勧告に基づいて蛍光定量法で定量化した。

I, II, III 型コラーゲン, アグリカン, TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , MMP-1・3・13 に対する各種の特異的なプライマーを用いて定量的逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) を行った。

統計分析は STATWING を用いて行った。統計的比較は、 $p < 0.05$ に相当する有意な閾値で Welch の t 検定を用いて行われた。

結果は、培養液中のタンパク IL-1 β は Co-Cr 群でセラミック群より有意に高値であった。MMP-3 は Co-Cr 群で高い傾向にあった。MMP-1, IL-1 α , TNF は 2 つの群で重要な違いは認めなかった。培養液中の定量ではヒアルロン酸量は Co-Cr 群で有意に高値であった。軟骨細胞の mRNA 発現において II 型コラーゲンはセラミックグループの方が Co-Cr グループの 3 倍高値であった。また、IL-1 β は Co-Cr グループの方が 4 倍高値であった。他の遺伝子発現には違いは認めなかった。

今回の研究は、軟骨との直接の関節摩擦における Co-Cr とアルミナセラミック骨頭の軟骨への生物学的影響を比較した最初の報告である。さらに、mRNA 発現だけでなく炎症性サイトカインのタンパク質レベルも測定しているので価値があると考えられる。本研究では、同じ条件下で、Co-Cr とアルミナベースのセラミックの 2 種類の異なる材料を使用して、軟骨に圧縮・回転荷重をかけた。Co-Cr が IL-1 β においてより高いタンパク質レベルおよび mRNA 発現、ならびに培養液においてより高いレベルの HA を誘導することが示され

た。さらに、II型コラーゲンの mRNA 発現は Co-Cr 群で有意に低かった。

IL-1 β は破骨細胞、リンパ球、および単球を活性化するために軟骨破壊に対し重要な役割を果たす。本研究では、軟骨細胞が術後早期に IL-1 β を発現することを示した。これは、ポリエチレン摩耗による粒子を介するだけでなく、軟骨に対する Co-Cr ヘッドの直接刺激も股関節表面および軟骨下骨を破壊することを示している可能性がある。II型コラーゲンは関節軟骨の主成分であり、Co-Cr 群において II型コラーゲン mRNA 発現が少なかったことから、軟骨細胞に悪影響を与えていることが示唆された。つまり関節軟骨に対する Co-Cr 骨頭の有害な影響を示している。軟骨からの HA 放出は変形性関節症の進行とともに増加する。本研究は、Co-Cr 群からの培地がより多量の HA を含有していたことから、軟骨が Co-Cr 骨頭によってより損傷を受けていることを示した

本研究では、検体数が少ないことと滑膜の代謝を評価していないことが限界である。

結論として、セラミックバイポーラ骨頭は軟骨細胞代謝に及ぼす有害な影響はごくわずかであったが、Co-Cr 骨頭ではより大きな障害が見られた。