

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

### Effect of Ceramic head of endprosthesis on acetabular cartilage metabolism: Animal study using crossbred pig

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 整形外科学分野  
研究生 松井秀平

Journal of Nippon Medical School, volume 85, number 6, 2018 掲載  
DOI 10.1272/jnms.JNMS.2018\_85-50

人工骨頭置換術において、セラミックは生体組織に不活性という研究がある一方、コバルトクロム (Co-Cr) を含む金属は組織に有害であるという報告が散見される。しかし、これらの報告は人工骨頭の構造において、アウターヘッドとインナーヘッド、臼蓋とアウターヘッドという 2 つの摩耗点を混合させた報告である。本研究では、人工骨頭置換術のセラミックとコバルトクロムの比較実験において臼蓋とアウターヘッド単独の軟骨に与える影響のみを調査した。最初に、セラミック摺動面はコバルトクロムよりも軟骨代謝に対する悪影響が小さいと仮説を立てた。今回の研究の目的はセラミック製とコバルトクロム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った。培養液は炎症関連サイトカインである MMP1・3、IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  とヒアルロン酸量を ELISA 法を用いて測定した。軟骨細胞の mRNA は I・II・III 型コラーゲン、アグリカン、TNF- $\alpha$ 、MMP1・3・13、IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  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 であったため、26mm 径のコバルトクロム製とセラミック製骨頭を使用した。堵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蛍光定量法で定量化した。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 Welch の t 検定を用いて行った。結果は、培養液中のタンパク IL-1 $\beta$  はコバルトクロム群でセラミック群より有意に高値であった。MMP-3 はコバルトクロム群で高い傾向にあった。ヒアルロン酸量はコバルトクロム群で有

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群の方がコバルトクロム群の 3 倍高値であった。また、IL-1 $\beta$  はコバルトクロム群の方が 4 倍高値であった。今回の研究は、軟骨との直接の関節摩擦におけるコバルトクロムと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、コバルトクロムが IL-1 $\beta$  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ヒアルロン酸を誘導することが示された。さらに、II 型コラーゲンの mRNA 発現はコバルトクロム群で有意に低かった。以上の結果からセラミック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、コバルトクロム骨頭ではより大きな障害が見られたと考察した。第二次審査では、本研究の概要、結果からの考察に加え、プライマー設計、実験中の軟骨細胞の状態、今後の臨床への展開等について議論され、いずれも文献的考察を加えた確かな回答を得た。本研究は、臨床的に今後の展開を期待できる成果を得ており、本文は学位論文として価値あるものと認定した。