

学位論文題名

A soluble factor (EMMPRIN) in exudate influences knee motion after total arthroplasty

(浸出液中の可溶性因子 (EMMPRIN) は
全人工関節置換術後の膝関節可動域に影響を与える)

学位論文内容の要旨

【背景と目的】

全人工膝関節置換術後 (TKA) は関節機能障害をもつ患者に対する有用な手術的治療法である。しかし、TKA 術後にはしばしば関節可動域制限が発生する。これまで術後膝可動域に影響する因子としては、術前の膝可動域、使用機種デザインの、術中に獲得できた靭帯バランス、術後リハビリテーションなどが報告されてきた。しかし、それらに関してまったく問題がない TKA 症例においても、「stiff knee」あるいは関節線維症と呼ばれる重度の関節可動域制限が発生することが知られている。このような関節包の線維化はコラーゲン線維の代謝異常の結果として生じる病態であり、TKA 後の関節可動域制限に関する病態の解明には生体工学的および治療学的因子だけでなく、コラーゲン代謝に関する生物学的因子の研究が必要であると考えられるが、この種の研究はほとんど報告されていない。生体内におけるコラーゲン代謝は様々な因子によって制御されており、Fosang らは関節滑膜液中の様々な可溶性因子は、コラーゲンやプロテオグリカンの同化や異化メカニズムに影響を与えると報告している。そこで我々は TKA 術後における関節内の浸出液中にコラーゲン代謝に影響する可溶性因子が含まれるのではないかと考え、術後の患者から採取した浸出液を解析した。Extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) は免疫グロブリンスーパーファミリーに属する膜貫通型糖タンパクで、matrix metalloproteinases (MMPs) の産生を刺激する機能があり、近年は様々な臓器の病的過程に関与していることで注目されている。また transforming growth factor (TGF)-beta1 は拘縮を起こした関節に過剰に発現していると報告されている。浸出液の解析において、我々は特にこの 2 つの可溶性因子に注目した。本研究の目的は、「TKA の術後 48 時間以内に膝関節へ浸出した液内の EMMPRIN と TGF-beta1 の濃度は、術後 4 週後の膝関節可動域と相関する」という仮説を証明することである。

【対象と方法】

当院で片側 TKA を施行された内側型変形性膝関節症患者 20 人で前向き研究を行った。20 人中、男性 3 名、女性 17 名。手術時平均年齢は 72.2 歳 (57-84 歳)、体重 59.0kg (48.2-77.5kg)、身長 1.46m (1.41-1.70m)、術前膝屈曲角度は平均 126.3° (90.0-145.0°)、femorotibial angle (FTA) は 184.5° (172.0-196.0°) であった。手術は一定期間の保存療法に抵抗し日常生活に支障をきたす患者に施行された。感染、筋力低下の著しい患者、術前膝内反変形が 16° 以上、伸展制限 10° 以上、可動域が 90° 以下の患者は除外した。手術は全例、一人の熟練した整形外科医 (K.Y.) が同じ手技で行い、使用機種は後十字靭帯保存タイプの LFA-III (Kyocera, Kyoto, Japan) を用いた。術中に関節内ヘドレーンチューブを留置し、術後はこのチューブに接続した閉鎖型持続ドレナージシステム (SB-Vac®, Sumitomo Bakelite, Tokyo, Japan) を用いて排液を行った。術後 48 時間目でバッグに貯留した浸出液を無菌的に

回収し、3000rpm で遠心分離器にかけた後、上澄のみを解析までの間 -80°C に冷凍保存した。EMMPRIN、TGF-beta1、MMP-1, 2, 9, TIMP-1 および HA 濃度の測定には enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)を使用した。また EMMPRIN については Western blot を用いて分画を解析した。各患者に同一の術後リハビリテーションが行われた。各患者の膝関節可動域計測には徒手最大屈曲位での膝側面レントゲン写真を用い、術前と術後4週において一人の整形外科医 (J.O.) が術者とは独立して行った。術後4週で計測を行った理由は、(1) もっと遅い時期の膝可動域は、各患者個人の生活様式や社会的要因の影響を大きく受ける可能性があったこと、(2) 4週の時期は可動域に対する両因子の影響が最もやすいことである。相関分析には Pearson's product moment correlation coefficient を用い、有意水準は5%とした。また power analysis も行った。

【結果】

術後4週での膝屈曲角度は $100-130^{\circ}$ (中間値 116.8°) であり、術後屈曲角度と手術時年齢、体重、身長、術前膝屈曲角度、術前 FTA との間に明らかな相関は認められなかった。EMMPRIN 濃度と術後4週の膝屈曲角度には有意な相関関係を認めた ($r=0.557$, $p=0.0148$, $Z_{1-B}=0.74$)。Western blot では EMMPRIN の中心タンパクを示す 27kDa のバンドが認められた。EMMPRIN 濃度と MMP-1, 2, 9, TIMP-1 および HA の間に有意な相関関係は認められなかった。一方、術後4週の膝屈曲角度と浸出液中 TGF-beta1 濃度との間には有意な相関関係は認められなかった ($r=0.021$, $p=0.930$)。

【考察】

本研究では、術後48時間の浸出液中の EMMPRIN 濃度と TKA 後4週で測定された膝屈曲角度との間において有意な正の相関関係を示し、この濃度が高い患者ほど良好な屈曲角度が得られた。統計学的には EMMPRIN 濃度が独立した影響因子である可能性が高い。しかし、本研究において EMMPRIN が関節拘縮を予防する直接の因子か否かはまだ決定されていないことに留意する必要がある。一方、術後48時間での浸出液中 TGF-beta1 の濃度と術後4週の膝屈曲角度の間にも明らかな相関関係を認めなかった。しかし、術後4週よりも遅い時期の可動域に影響を与える可能性は存在する。

Huet らは、EMMPRIN は創傷治癒過程において、線維芽細胞の筋原線維細胞への分化を促進すると報告している。筋原線維細胞は創傷治癒に重要な役割を担うと考えられており、TKA 後の手術的損傷を受けた関節包と滑膜組織から EMMPRIN が産生されて組織の創傷治癒を促進し、(1)膝可動域訓練における疼痛を緩和し術後リハビリテーションを容易にした、(2)早期治癒過程の完了は組織拘縮の発生を防止して術後訓練の結果としての可動域の維持を可能にした、という2つのメカニズムを介して術後膝可動域を増加させた可能性がある。

臨床的に、TKA 後浸出液中の EMMPRIN は術後膝可動域を予測できる生物学的指標となりうると考えられる。もし浸出液中の予測可能な因子が確立されれば、TKA 術後に関節拘縮を起こす可能性のある患者に対して特別なりハビリテーションのプロトコールを用いて重篤な可動域獲得不全を予防できる可能性がある。しかし EMMPRIN が本当に臨床的に有用な指標であるかどうかという検討は、今後さらに必要である。

本研究は TKA 後の関節可動域は、機械的、療法的要因だけでなく膝関節周囲組織のコラーゲン代謝のような生物学的要因にも影響を受ける可能性を初めて示唆した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 三 浪 明 男
副 査 教 授 近 藤 哲
副 査 教 授 安 田 和 則

学 位 論 文 題 名

A soluble factor (EMMPRIN) in exudate influences knee motion after total arthroplasty

(浸出液中の可溶性因子 (EMMPRIN) は
全人工関節置換術後の膝関節可動域に影響を与える)

全人工膝関節置換術 (TKA) は進行した変形性膝関節症 (OA) に対する有用な治療法である。しかし TKA 術後には関節可動域 (ROM) 制限がしばしば発生し、この治療の大きな問題点として認識されている。この原因に関しては種々の生体工学的因子や治療学的因子が指摘されている。しかし生物学的因子に関する研究はまったく報告されていなかった。申請者は TKA 後の ROM 制限に対する関節線維症の関与に着目した。本前向き臨床研究の目的は、「TKA 術直後の関節内の浸出液中に存在する Extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) および TGF-beta1 濃度は、術後 4 週の膝 ROM と相関する」という仮説を証明することである。

症例は後十字靭帯温存型 LFA-Ⅲを用いて片側 TKA を行った内側型 OA 患者 20 人 (男性 3 名、女性 17 名) である。全ての手術は一人の熟練した整形外科医が同一の手技で行い、術後 24~48 時間にドレーナージバッグに貯留した浸出液を無菌的に回収した。その後、すべての患者に同一の後療法を行った。ROM 計測には徒手最大屈曲位で撮影した膝側面レントゲン写真を用い、術前と術後 4 週において一人の整形外科医が術者とは独立して行った。浸出液中の EMMPRIN、TGF-beta1、MMP-1, 2, 9、TIMP-1、および HA 濃度の測定には ELISA を用いた。また EMMPRIN については Western blot を用いて分画を解析した。解析には Pearson 相関分析を用い、有意水準は 5% とした。

その結果、EMMPRIN 濃度と術後 4 週の ROM には有意な相関を認めた ($r=0.557$ 、 $p=0.0148$)。この濃度が高い患者ほど良好な ROM が得られた。Western blot では 27kDa のバンドが認められた。術後 4 週での ROM と、手術時年齢、体重、身長、術前 ROM、術前大腿脛骨角との間に明らかな相関は認められなかった。また EMMPRIN 濃度と MMP-1, 2, 9、TIMP-1 および HA の間に有意な相関関係は認められなかった。術後 4 週の膝 ROM と浸出液中 TGF-beta1 濃度との間には有意な相関関係は認められなかった ($r=0.021$ 、 $p=0.930$)。

EMMPRIN は線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化を促進すると報告されている。また筋線維芽細胞は創傷治癒に重要な役割を担うと考えられている。したがって TKA 後の手術的損傷を受けた関節包と滑膜組織で産生された EMMPRIN が創傷治癒を促進した可能性がある。すなわち、EMMPRIN の効果の機序に関しては、創傷治癒の促進は疼痛を緩和して術後 ROM 訓練を容易にし、また創傷治癒過程の完了は拘縮の再発を防止して、獲得した ROM の維持を可能にし、その結果として術後 ROM を増加させた可能性が考えられた。

一方、術後 48 時間での浸出液中 TGF-beta1 の濃度と、術後 4 週の膝の ROM の間にも明

らかな相関関係を認めなかった。しかし TGF-beta1 が、術後 4 週より後の関節拘縮に影響を与える可能性があり、今後の検討を要すると考察している。

本研究の臨床との関連としては、TKA術後浸出液中のEMMPRIN量の計測によって、術後ROM制限を起し易い体質を予測できる可能性が考えられる。さらに将来には、EMMPRIN、またはその下流にある分子に対する標的治療を開発できる可能性が示唆された。

口頭発表の後、副査の近藤教授より、EMNMPRINの創傷治癒例の他組織での報告について、EMMPRINを分泌する細胞について、組織評価の有無について、および変形性膝関節症以外の疾患におけるEMMPRINの発現について質問があった。次いで主査の三浪より、EMMPRINに着目した理由について、筋線維芽細胞と創傷治癒との関係について、および評価時期決定の理由について質問があった。最後に副査の安田教授より、TGF-beta1の膝ROMとの関連の発現時期について、およびヒトを対象とした臨床研究における倫理的配慮について質問があった。いずれに対しても申請者は、自己の研究結果と文献的考察、臨床的経験に基づいて概ね妥当な回答を行った。

本研究はTKA後のROM制限に影響を与える生物学的因子を研究した世界で初めての研究であり、術後48時間の浸出液中のEMMPRIN濃度とTKA後4週で測定されたROMとの間に有意な正の相関があることを明らかにし、EMMPRINが術後ROM制限を起し易い体質を予測するマーカーになり得る可能性を示唆した。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院過程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。