

岩永 斉 論文内容の要旨

主 論 文

Enhanced expression of insulin-like growth factor-binding proteins in human osteoarthritic cartilage detected by immunohistochemistry and *in situ* hybridization

ヒト変形性関節症軟骨ではインスリン様成長因子結合タンパクの発現が増加している

岩永 斉、松本 智子、榎本 寛、岡野 邦彦、
菱川 善隆、進藤 裕幸、小路 武彦

OsteoArthritis and Cartilage 13, 439-448, 2005

長崎大学大学院医学研究科 外科系 専攻
(指導教授：進藤裕幸 教授)

緒 言

変形性関節症（以下 OA）は軟骨基質の変性を生じ、損傷した組織が修復されないまま関節機能の障害へ至る疾患である。軟骨の変性を防ぐ方法は、まだ確立されておらず、成因も十分解明されていないが、加齢と機械的なストレスが一因と考えられている。関節の破壊は、軟骨基質の分解と合成との不均衡により生じる。インスリン様成長因子（以下 IGF）-1 は、軟骨の増殖分化促進因子である。IGF-結合蛋白（以下 IGFBP）は IGF の局所での作用を調節している。諸家の報告によると、OA 軟骨細胞の IGF-1 に対する反応性が低下していること、OA の関節液中では IGF-1 と IGFBP-3 濃度が増加していること、そして OA の関節軟骨細胞培養で IGFBP-3, IGFBP-5 の産生が増加している。このことは、OA の病態形成に IGFBP が関与していることを示している。我々は、OA 軟骨における IGF と IGFBP の役割を明らかにする目的で、今回の研究を行った。

対象と方法

対象はヒト女性の大腿骨頭軟骨 20 例である。OA 群は人工股関節置換術を行った変形性股関節症患者 10 例、対照群は人工骨頭挿入術を行った大腿骨頸部内側骨折患者 10 例である。OA の診断は、単純レントゲン所見をもとに行った。平均年齢は OA 群が 55 才、対照群が 76 才であった。手術時に得られた標本は、直ちに paraformaldehyde で固定し、EDTA 溶液で脱灰後パラフィン包埋した。薄切標本は、HE 染色と Safranin-O 染色を

行い、Mankin の評価法 (0-14) を用い組織学的変性度を評価した。

免疫染色は抗ヒト IGFBP-3, -4, -5 抗体、抗ヒト IGF-1, IGF-1 receptor 抗体を用いた。結果の評価は、軟骨組織全層 (表層・中間層・深層) を光顕で調べ陽性細胞率を計算した。

In situ hybridization ではヒト IGFBP-3, -4, -5 mRNA に対するプローブを作成、チミン二量体で標識し使用した。Dot blot hybridization では 10pg の mRNA まで検出出来ることを確認している。結果の評価は image analyzer (AXIOVISION), computer software (Scion image) を使用し、対照 (sense control probe) よりも細胞質が濃く染まった軟骨細胞を陽性と判断した。軟骨各層でそれぞれ調べ、陽性細胞率を計算した。

統計学的解析は、Mann-Whitney U 検定を用い、有意水準は 5%とした。相関については、Spearman の順位相関係数を用いた。

結 果

Mankin の評価では、OA 群で 6-12 (平均 8.6) と中等度から高度の変性像を示していた。対照群はすべて 2 以下 (平均 0.7) であり、ほとんど変性所見を認めなかった。

免疫染色では、軟骨細胞に IGFBP-3, -4, -5, IGF-1, IGF-1 receptor を認めた。これらはすべて、OA 群で対照群に比べ陽性率が有意に高かった。

Mankin の評価と IGFBP-3, -4, -5, IGF-1, IGF-1-receptor の免疫染色陽性率を比較したところ、軟骨変性が進んだ症例では、高い陽性率を示す傾向がそれぞれ認められた。

In situ hybridization では、IGFBP-3, -4, -5 mRNA が軟骨全層で細胞質に発現していることが確認された。OA 群の IGFBP-3, -4, -5 mRNA 陽性細胞率は、対照群に比し有意に増加していることが認められた。

考 察

IGFBP ファミリーは 現在 1 から 6 ままで知られており、血清中には IGFBP-3 が最も多く存在している。組織中の各細胞がそれぞれ固有の IGFBP を産生し、ヒト軟骨細胞では、IGFBP-2~5 の産生が培養細胞を用いた in vitro で確認されているが、ヒト軟骨組織でその分布をみた報告はない。IGF は生体中で free の状態で存在することはほとんどなく、IGFBP と結合した状態で存在している。IGF が一定の作用を発揮するためには、この結合蛋白からはずれて、レセプターに結合することが必要であり、各 IGFBP および分解酵素が、その調節を行っていることが考えられる。一般に IGF はレセプターに対する結合力よりも、その結合蛋白に対する結合力が強い。今回の研究では、OA 軟骨細胞で IGF-1, IGF-1-receptor の増加も認められたことから、OA 軟骨での IGFBPs の増加が、IGF-1 に対する軟骨細胞の反応性低下の一因と考えられた。

IGFBP-3, -4, -5, IGF-1, IGF-1 receptor と IGFBP-3, -4, -5 mRNA を軟骨全層の軟骨細胞に認め、それらは OA 軟骨で増加していた。また組織学的変性度が進行した症例では、これらの陽性率が増加していた。このことは、軟骨細胞が産生した IGFBP-3, -4, -5 が、OA の病態の形成に参与している可能性を示唆している。