

論文内容要旨

論文題目

Analyses on immunohistochemical localization of innate immune sensors, Toll-like receptor 2 and nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor with a pyrin domain 3, in aseptic periprosthetic tissues around loose hip joint and their response to foreign body particles

(無菌性弛緩人工関節周囲組織における自然免疫センサーTLR2 と NLRP3 の免疫組織学的局在と異物粒子応答性に関する検討)

責任講座： 整形外科学講座

氏名： 長沼 靖

【内容要旨】(1,200字以内)

背景：人工股関節全置換術における無菌性の弛みは未だ克服されていない合併症の一つである。摺動面由来のインプラント摩耗粉はマクロファージに貪食され、異物肉芽腫反応を生じる。それに伴う催炎性サイトカイン過剰産生は、骨溶解を惹起し人工関節の弛みを引き起こす。マクロファージの異物認識反応には Toll 様受容体 (Toll-like receptor: TLR) や NOD (Nucleotide oligomerization domain) 様受容体 (NOD-like receptor: NLR) などのパターン認識受容体が関与する。無菌性弛緩人工関節の病態形成にも TLR 反応系の一部が関与することが示され、NLR with a pyrin domain 3 (NLRP3) 反応系が弛みの病態形成に関与する可能性も示唆されている。しかし無菌性弛緩人工関節における TLR 系の詳細な役割や NLRP3 の関与については不明のままである。本研究では無菌性弛緩人工股関節周囲組織における TLR 並びに NLRP3 の反応に関与する分子の局所発現様式を明らかにし、さらに異物を貪食したマクロファージにおける TLR1、TLR2、TLR6、NLRP3、催炎性サイトカインの動態について検討した。**対象と方法：**無菌性弛緩人工股関節周囲組織、感染性人工関節周囲組織、変形性股関節症滑膜組織を用いて免疫組織学的に TLR1、TLR2、TLR6、NLRP3、TNF- α 、IL-18 の発現様式について検討した。またマウスマクロファージ培養細胞を用い、チタン粒子及びリポタイコ酸 (Lipoteichoic acid: LTA) 付着チタン粒子の異物貪食試験を行い、定量的リアルタイム PCR、ELISA により各受容体、サイトカインの分子動態について解析した。**結果：**無菌性弛緩人工股関節周囲組織では、感染性弛緩人工関節及び変形性股関節症滑膜組織とは異なる病理像を示し、マクロファージを主体とした異物肉芽腫が形成され、各受容体、サイトカインの強い免疫反応性が認められた。異物貪食実験では、チタン貪食により TLR2 と TNF- α の mRNA 発現が亢進し、LTA 付着チタンの貪食により NLRP3 と IL-18 の mRNA 発現が増強した。TNF- α の分泌は増加したが、IL-18 の分泌は検出されなかった。**考察：**免疫組織学的検討から無菌性弛緩人工股関節周囲組織の異物肉芽腫反応では自然免疫センサー TLR1、TLR2、TLR6 と NLRP3 が関与する可能性が示唆された。一方、異物貪食試験でも TLR2 と NLRP3 の mRNA 発現亢進が示されたが、蛋白分泌では TNF- α と IL-18 に乖離がみられた。この現象は IL-18 誘導性の急性炎症を伴わない無菌性弛緩人工関節周囲組織の病態に合致しうる現象と考えられた。

平成 26 年 1 月 14 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：長沼 靖

論文題目：Analyses on immunohistochemical localization of innate immune sensors, Toll-like receptor 2 and nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor with a pyrin domain 3, in aseptic periprosthetic tissues around loose hip joint and their response to foreign body particles (無菌性弛緩人工関節周囲組織における自然免疫センサーTLR2 と NLRP3 の免疫組織学的局在と異物粒子応答性に関する検討)

審査委員：主審査委員

浅尾裕信



副審査委員

高木理彰



副審査委員

本郷誠治



審査終了日：平成 26 年 1 月 14 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

人工股関節全置換術の合併症の一つとして、無菌性炎症を伴う弛みがある。この成因には、インプラントのチタン摩耗粉により活性化されたマクロファージが関与しているが、その活性化に Toll 様受容体 (TLR) や NOD 様受容体 (NLR) が関わっている可能性が示唆されている。

申請者は無菌性弛緩人工股関節周囲組織における TLR、NLR with a pyrin domain 3 (NLRP3) や TNF- α 、IL-1 β の関与を調べるために、それら分子の発現様式を解析した。その結果、無菌性弛緩人工股関節周囲組織の異物肉芽腫にはマクロファージが集積し、TLR1、TLR2、TLR6、NLRP3 などの受容体や炎症性サイトカインである TNF- α 、IL-1 β の産生を認めた。TLR2 と TLR6 はグラム陽性球菌が持つリポタイコ酸 (LTA) の受容体である。そこで、マウス骨髄由来マクロファージに、チタン単独、あるいは LTA を付着させたチタンを貪食させ、TLRs や NLRP3 の発現、TNF- α 、IL-1 β の産生を *in vitro* で解析した。その結果、チタン単独でも TLR2 や TNF- α の転写を活性化したが、LTA 付着チタンではさらに NLRP3 や IL-1 β の転写活性化を認めた。しかし、IL-1 β は細胞内に蛋白発現を認めるものの、細胞外への分泌は認められなかった。これらの結果から、LTA はチタンによるマクロファージ活性化を相乗的に亢進させるが、NLRP3 インフラマソームの活性化には至らず、プロ IL-1 β から IL-1 β へのプロセッシングは起こらなかったのではないかと推察された。この結果は、IL-1 β を分泌しない無菌性弛緩人工股関節周囲炎の病態と合致していた。LTA 付着チタンがどのようにして TLRs や NLRP3 の遺伝子を活性化したのか、また、なぜ NLRP3 インフラマソームの活性化が起こらないのかなど、検討すべき課題は残っているが、今後研究を進展させることにより無菌性弛緩人工股関節周囲炎の病態が解明されることが期待される。

審査会で指摘された事項についても可能な部分については適宜修正されており、学位論文本審査委員会は本研究論文を博士 (医学) の授与に値すると判定した。

(1, 200字以内)