

## B24

局所投与されたGDF-5の  
靱帯の治癒に及ぼす影響

田代俊之 福井尚志 田中栄 織田弘美 中村耕三  
東京大学整形外科

【目的】近年の研究より、組織修復には種々の成長因子が関与していることが明らかとされてきた。Wolfman は TGF- $\beta$  スーパーファミリーの一つである Growth and Differentiation Factor 5 (以下 GDF-5) をラットの皮下と筋肉内に局所投与したところ、靱帯、腱様組織が形成されたと報告している。しかし GDF-5 の局所投与により損傷靱帯の治癒過程が促進されるかは不明である。本研究の目的は GDF-5 が靱帯の修復過程に及ぼす影響を検討することである。

【対象ならびに方法】実験には 6 週令の Sprague-Dawley rat 123 匹を用いた。全麻下に右膝関節内側副靱帯 (MCL) を、長さ 2 mm、全幅にわたって切除し、41 匹には靱帯切除部に 30  $\mu$  g の GDF-5 を、10  $\mu$  l のフィブリン糊に混入して投与した (GDF 群)。この対照として溶媒である 10 mM 塩酸 10  $\mu$  l をフィブリン糊に混入し投与した群、及び靱帯を切除しただけの群をそれぞれ 41 匹ずつ作製した。

各群、各週あたり 3 匹を用いて、投与後 1, 3, 6 週で修復靱帯の肉眼的所見、組織学的所見 (HE 染色) を評価した。また各群、各週あたり 3 匹を用いて digoxigenin を用いた非放射性的 *in situ* hybridization により靱帯修復部における type 1 ( $\alpha$ 1) procollagen m-RNA の発現の状態評価した。

投与後 3, 6 週の時点で各群 10 匹ずつを屠殺し、修復靱帯の力学的強度を測定した。力学試験は万能引っ張り試験機 (テンシロン東洋ボールドウィン社製) を用い、最大破断強度と stiffness を測定した。

さらに 6 週時に各群 3 匹ずつを屠殺し、修復靱帯を採取後、靱帯修復部横断面を透過型電子顕微鏡で観察し (50000 倍)、コラーゲン線維の太さ、密度を評価した。

【結果】GDF 群では各週数で肉眼的に修復組織の形成量が多かった。また組織学的には 3 週までは GDF 群では修復組織中の細胞の核がより成熟した形態を示し、方向性もより均一であったが、6 週ではその差は少なくなっていた。*in situ* hybridization の結果、GDF 群では 1 週、3 週の標本において type 1 ( $\alpha$ 1) procollagen m-RNA の発現量が多かった。最大破断強度、stiffness は 3 週、6 週とも GDF 群でコントロール群に比べ大きかった。6 週の靱帯修復部の電子顕微鏡所見では、GDF 群では他の 2 群に比較して、コラーゲン線維は径がより太く、より密に存在していた。

【考察】今回の結果より、損傷靱帯への GDF-5 の局所投与により細胞の成熟が促進されている可能性が示された。また type 1 ( $\alpha$ 1) procollagen m-RNA の発現が増強されている事より、I 型コラーゲンの合成が促進されている可能性があることも示された。さらに、GDF-5 の局所投与により 6 週ではコラーゲン線維の径がより太く、より密に存在していたが、これもコラーゲン合成が促進されたことと関連がある可能性があると考えられた。またコラーゲン線維の太さは力学的強度と関連すると考えられているが、今回の結果では GDF-5 の局所投与により修復靱帯の力学的強度も増加した。

【結論】ラットの膝内側副靱帯損傷モデルにおける検討から、損傷時に投与された GDF-5 は、損傷靱帯の修復過程を促進する可能性がある。

Growth and Differentiation factor-5 promotes the repair process of medial collateral ligaments in rats.

Toshiyuki Tashiro, Naoshi Fukui, Sakae Tanaka, Hiromi Oda, Kozo Nakamura

Dept. of Orthop. Surg., The Univ. of Tokyo

## B25

## 慢性関節リウマチ滑膜組織と関節液に

おける urocortin および CRF receptor の発現

○宇月美和<sup>1)</sup>, 笹野公伸<sup>2)</sup>, 村松康成<sup>2)</sup>, 戸恒和人<sup>2)</sup>, 高橋和広<sup>2)</sup>, 沖 隆<sup>3)</sup>, 飯野和美<sup>3)</sup>, 澤井高志<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>岩手医科大学病理学第一講座, <sup>2)</sup>東北大学医学部, <sup>3)</sup>浜松医科大学内科学第二講座)

【目的】urocortin (UCN) は corticotropin releasing factor (CRF) family の一種で、CRF 作用の一部をもたらす。今回は慢性関節リウマチ (RA) における UCN および CRF receptor (CRF-R) の動態について検討した。【方法】対象は RA 32 例、変形性関節症 7 例、関節外傷例 6 例で、滑膜組織を用いて UCN の分布 (免疫組織化学)、産生 (*in situ* hybridization, RT-PCR) を検討し、同側の関節液を用いて定量化 (RIA 法) を行った。滑膜については CRF-R の RT-PCR も行った。【結果】滑膜組織では滑膜表層細胞やリンパ球、線維芽細胞などが UCN 陽性となり、RT-PCR でも証明された。滑膜の陽性細胞数と関節液中の濃度はともに RA で高値で、対照例では低値であった。また、滑膜組織での陽性細胞数と関節液中の濃度との間には有意な相関がみられた ( $R=0.7056$ ,  $P<0.001$ )。さらに、CRF-R については RA 滑膜では CRF-R1 がわずかに陽性、CRF-R2  $\alpha$  が明らかに陽性、CRF-R2  $\beta$  は陰性であった。【総括】検討の結果、関節液中の UCN は RA 患者の関節滑膜局所で産生されている可能性がある。また産生している細胞は多彩であり、RT-PCR で CRF-R が証明されたことからオートクライン、パラクライン的に作用している可能性が示唆された。

Urocortin and CRF receptor in the synovial tissue in patients with rheumatoid arthritis

Miwa Uzuki<sup>1</sup>, Hironobu Sasano<sup>2</sup>, Yasunari Muramatsu<sup>2</sup>, Kazuhito Totsune<sup>2</sup>, Kazuhiro Takahashi<sup>2</sup>, Yutaka Oki<sup>3</sup>, Kazumi Iino<sup>3</sup>, Takashi Sawai<sup>1</sup>

(1 The First Department of Pathology, Iwate Medical University, School of Medicine, 2 Tohoku University, School of Medicine, 3 Second Division, Department of Medicine, Hamamatsu University School of Medicine)