

## B11

## 関節リウマチおよび変型性関節症関節滑膜における WNT および FRP の発現

○今井一志<sup>1</sup>, 奥瀬敏之<sup>1</sup>, 森川昌子<sup>1</sup>, 松本秀男<sup>2</sup>, 岡田保典<sup>3</sup>, 真田一男<sup>1</sup>

(日本歯科大学学生化学講座<sup>1</sup>、慶応義塾大学整形外科学教室<sup>2</sup>、病理学教室<sup>3</sup>)

【目的】関節リウマチ (RA) は滑膜表層細胞の増殖と滑膜の炎症細胞浸潤・血管増生により特徴づけられ、他の関節疾患と大きく異なる病像を示す。今回、我々は WNT の RA 滑膜細胞での発現と役割を検討した。【対象と方法】RA および変型性関節症 (OA) 滑膜組織に発現する WNT および WNT の細胞外インヒビターである secreted frizzled-related protein (FRP) を RT-PCR および免疫組織染色で検討した。WNT シグナル伝達に働く  $\beta$ -catenin (CTNNB1) の活性型変異体 (s/aCTNNB1) と不活性型変異体 ( $\Delta$ CTNNB1) を発現する滑膜線維芽細胞 (SF) を樹立し、細胞増殖活性と WNT シグナル標的遺伝子 (c-MYC、MT1-MMP) の発現を検討した。【結果】WNTs と FRPs は RA と OA 滑膜組織にそれぞれ選択的に発現していた。WNT10B は RA 滑膜の滑膜表層細胞、滑膜下層の線維芽細胞と血管内皮細胞に局在し、その発現は炎症細胞浸潤および線維化と関連していた。FRP1 は OA 滑膜の滑膜表層細胞、線維芽細胞と血管内皮細胞に陽性であった。s/aCTNNB1 あるいは  $\Delta$ CTNNB1 を導入した SF では細胞増殖性に明らかな差はみられなかったが、c-MYC と MT1-MMP の発現は s/aCTNNB1-SF で亢進し、 $\Delta$ CTNNB1-SF では停止していた。RA パンヌス組織において WNT10B は CTNNB1 および MT1-MMP とともに陽性であった。【結論】RA 滑膜では WNT シグナル系が活性化されているのに対し、OA 滑膜では WNT の発現頻度の低下とともに WNT インヒビターが発現していることが明らかになった。これらの現象は RA と OA 関節滑膜の病態に大きな違いをもたらすと同時に、WNT シグナル系の阻害が RA の治療のターゲットになりうる可能性を示唆している。

Expression of WNT and FRP in the synovium of patients with rheumatoid arthritis or osetoarthritis.

Kazushi Imai<sup>1</sup>, Toshiyuki Okuse<sup>1</sup>, Masako Morikawa<sup>1</sup>, Hideo Matsumoto<sup>2</sup>, Yasunori Okada<sup>3</sup>, Kazuo Sanada<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Department of Biochemistry, Nippon Dental University, Departments of <sup>2</sup>Orthopaedic Surgery, and <sup>3</sup>Pathology, Keio University)

## B12

## 細胞単独からなる間葉系幹細胞プラグを用いた軟骨再生

○中山功一, 松田秀一, 田仲和宏, 水内秀城, 岩本幸英  
(九州大学整形外科)

【目的】単離された細胞懸濁液を静置すると細胞が自然凝集する事は古くから知られている。我々はこの現象に基づき、細胞単独でほぼ任意の形状のプラグを作成する方法を開発した。今回、骨髓由来細胞プラグを用いて、家兎骨軟骨欠損への自家移植を行った。

【方法】日本白色家兎より採取した骨髓細胞を単層培養し、必要な細胞数が得られるまで継代した。得られた細胞は細胞懸濁液にし、アガロース上で培養し、24 時間後には細胞凝集塊を得た。この凝集塊を、 $\alpha$ トリリン酸カルシウムのディスクを底部に敷いたチャンバー内に入れ培養した。24 時間後には凝集塊同士はチャンバーの形状に沿って融合しプラグ状になった。家兎大腿膝蓋骨溝に骨軟骨欠損を作成し、チャンバー内で 2 日間培養した自家細胞由来プラグの移植を行い、1 週間ギプス固定を行った。術後 3、6、12 週に屠殺し、マイクロ CT (以下 MCT)、サフラニン O 染色、II 型コラーゲン免疫染色を行い、移植部の修復を評価した。

【結果】術後 3 週では、移植部は肉眼的に軟骨様組織と赤褐色の肉芽組織が混在していた。MCT では、移植部の軟骨下骨のレベルにおいて、周囲の健全部との連続性をもった骨化が移植部辺縁から中心へ向かうようにみられた。サフラニン O 染色で、移植部関節面および軟骨下骨レベルで移植部辺縁の染色が見られた。さらに、軟骨下骨レベルでの肥大軟骨細胞の出現と、血管の進入をみとめた。II 型コラーゲンも、サフラニン O と同部位に発現を認めた。6、12 週では、移植部の関節面は軟骨様組織で覆われ、周囲との連続性も良好であった。MCT でも週の経過とともに軟骨下骨レベルでの骨化傾向は強まっていた。

【考察・結論】我々の方法は、事前に十分な量の単層培養の細胞が準備できれば、短期間で移植可能なプラグが作成可能である。移植部は良好な軟骨様組織の修復が得られており、細胞単独で軟骨再生が可能であった。

In vivo study of scaffold free mesenchymal stem cell plug for cartilage repair

Koichi Nakayama, Shuichi Matsuda, Kazuhiro Tanaka, Hideki Mizuchi, Yukihide Iwamoto

(Dept. of Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University)