

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

骨水泥(PMMA)塊狀植入物及微粒對局部組織反應之影響

Effects of bone cement (PMMA) on the local tissue responses

計畫編號：NSC 89-2314-B-002-391

執行期限：89年8月1日至90年7月31日

主持人：劉堂桂 台大醫學院骨科

一、中文摘要

由於人工關節置換手術的成功，使它被廣泛應用於治療嚴重關節疾患，但是由於人體組織的自然反應，使得在置換人工關節達一段時間之後，引起一些併發症，輕者影響病患的功能，重者可能使病患感到十分疼痛，而必須再度施行手術置換人工關節。在置換人工關節以後，由於體內增加大量的異體材質，在長期使用之後會引起磨損，並且會釋出人工關節材質的一些磨損磨損微粒，進而引起人工關節周圍組織發生局部變化，這些磨損微粒包括骨水泥磨損物，聚乙烯磨損物以及金屬磨損物等，依種類而異，這些可能會引起局部的炎性反應，造成進一步的局部骨骼吸收，使人工關節的固定鬆動，進而引起鬆脫，也可能會影響局部神經及肌肉組織的病變，造成更多的傷害。由於在臨床上無法取得各種不同組織進行研究分析，因此，本研究計劃主要利用動物體內模式研究植入人工關節骨水泥塊所引起的局部組織反應物炎性反應。結果發現利用植入與人工關節同材質的骨水泥塊於動物體內的模擬動物模式，在植入物四周組織(腿部)有發炎現象。

利用 Western blot 方法，我們發現植入骨水泥塊組的腿部骨骼肌 nNOS 表現量增加，且 iNOS 也會被誘導出來。另外在坐骨神經部分，植入聚乙烯塊組 nNOS 表現量增加；而 PKC α 於 cytosol 和 membrane fraction 的量也會增加。這些結果顯示氧化氮合成酵素 (nNOS 及 iNOS) 的促調節 (up-regulation) 在骨水泥塊植入物四周組織炎症反應上扮演重要角色。

關鍵字：骨水泥；一氧化氮；炎性反應
Abstract

Cemented joint replacements involve the securing of non-reactive metallic and polyethylene components to bone by polymethylmethacrylate (PMMA) cement. Local reaction to PMMA includes initial necrosis of bone and bone marrow with fibrin formation, followed by repair of variable duration with development of a fibrous layer along the cement-bone interface. The results are obtained includes the following items: We will set up the PMMA implanted model and assess the expression of nitric oxide synthase (NOS), cyclooxygenases (COX) and protien

kinase C (PKC). These reaction represent the local inflammatory response. The results shown that nNOS and iNOS were increased or induced in leg muscles. The increased nNOS protein and PKC- α also shown in sciatic nerves. However, COX did not increase or induction in muscle or nerve tissues. Conclusively, from the findings of this project, it is considered that PMMA implants-induced inflammatory responses may be another important factor in the development of implant-associated infection in patients with a prosthesis.

Keywords: PMMA, bone cement, nitric oxide synthase, local inflammatory response.

二、緣由與目的

人工關節置換是目前治療嚴重關節疾病的重要手術之一，雖然此種治療改善許多病患的關節功能，使其生活品質大為改善，但是部分病患在接受置換人工關節一段時間之後，可能會發生一些併發症，引起人工關節的鬆脫，不但嚴重損害其關節功能，而且可能會使病患需要再度接受手術，重新置換人工關節，可惜這些病患經一再手術之後，關節功能及骨骼都會逐漸變差，嚴重影響治療成效，因此防範發生人工關節置換後的併發症，已成為骨科醫學的重要課題之一。由於人工關節的材質為合金，在植入體內後會引起局部組織的排斥反應，使人工關節表面增生一些纖維組織，並

且可能會釋出分解蛋白質的酵素和細胞動力素，引起局部骨吸收，而進一步影響人工關節的固定並引起鬆脫，造成臨床上的重大問題。[1-9]無論使用骨水泥固定式或是無骨水泥式人工關節，都可能會引起人體骨代謝變化。骨水泥，金屬碎屑，或是多聚乙烯等都可能造成局部骨骼吸收。本研究小組也曾進行一些研究，探討無骨水泥式人工關節鬆脫時的局部變化，結果也印證這些事實。臨床研究發現，關節變形病患在接受人工關節置換之後，患肢的肌力雖有改善，但其恢復情形仍有許多限制，許多病患的肌肉萎縮現象及神經系統功能仍有相當程度的限制。這種現象可能與病患長期罹患疾病及長期服藥有關，但是可能也會與植入人工關節後所引發的局部組織反應有關。病患在接受人工關節之後，植入人工關節之後所釋出的磨損微粒除了引起前述的局部骨骼組織發生變化之外，在置換人工關節之後也可能會影響其他組織，例如纖維組織內的巨噬細胞，肌肉組織及神經組織等，以及在遠處的其他組織，並引起不同的變化。[1,4,6]這些變化可能與一些內源性因素有關，如一些細胞動力素及酵素等。其中氧化氮合成酵素(Nitric oxide synthase, 簡稱 NOS)與許多骨骼疾病有關，包括炎性反應時的巨噬細胞活性，關節炎，骨質疏鬆症，敗血病，韌帶癒合過程及人工關節鬆脫等[10-18]，這些變化可能與造骨細胞或破骨細胞的活

性有關。細胞的 NOS 有兩類，一種為本質性 (constitutive NOS; 例如神經元型, nNOS)，另一種為可誘發性 (inducible NOS; 巨噬細胞型, iNOS)。正常身體內有許多細胞皆可被誘發合成 NOS，並進一步合成 NO。本質性的 NOS 只產生少量 NO 且存在短暫時間，而誘發性 NOS 可產生大量 NO 而且會存在較久時間，因此會引起更大的作用。[10,14,16] 許多細胞動力素 (如 IL-1, TNF-, IFN- 等)，細胞內毒素及吞噬作用皆可誘發合成 NOS。[10,17] 研究報告指出，活化的巨噬細胞會有很明顯的 NOS 產生，並會對局部組織產生傷害[10-16]。但是臨床上有關人工關節植入後的肌肉組織與神經組織和 NOS 的研究很少，而由於骨科臨床上幾乎每日都有許多病患接受人工關節手術，因此探討在人工關節置換手術後的局部代謝變化是刻不容緩的當務之急，此乃目前的重要課題。本研究計劃主要利用動物體內模式研究人工關節骨水泥磨損物磨損微粒所引起的局部組織反應物炎症反應，並且使用一氧化氮生成酵素抑制劑及環氧酵素抑制劑以評估治療方針。將骨水泥磨損微粒注射到大鼠的膝關節或將骨水泥塊植入大腿肌肉內共四週，然後取出局部組織作組織切片觀察，並分析該組織內的基質分解酵素、一氧化氮生成酵素、環氧酵素及鈉鉀腺核甘三磷酸酵素變化，供以推論人體接受人工關節置換後的相關變化。經由此研究我們可更明白病患

的真正手術後反應，對於整個臨床骨科而言，這是非常珍貴的資料。目前有關此方面的研究報告很少，因此，更顯得本研究的臨床意義十分重大。

三、結果與討論

本研究計劃主要利用動物體內模式研究植入人工關節骨水泥塊所引起的局部組織反應物炎症反應。結果發現在植入物植入四週後，組織 (腿部) 有發炎現象。利用 Western blot 方法，我們發現植入骨水泥塊組的腿部骨骼肌一型一氧化氮生成酵素 (nNOS) 表現量增加，且二型一氧化氮生成酵素 (iNOS) 也會被誘導出來。另外在坐骨神經部分，植入聚乙烯塊組 nNOS 表現量增加；而 PKC α 於 cytosol 和 membrane fraction 的量也會增加。這些結果顯示氧化氮合成酵素 (nNOS 及 iNOS) 的促調節 (up-regulation) 在骨水泥塊植入物四周組織炎症反應上扮演重要角色。

四、參考文獻

1. Agins HJ, Alcock NW, Bansal M, et al.: Metallic wear in failed titanium-alloy total hip replacements. *J Bone Joint Surg* 70A:347-356, 1988.
2. Horowitz SM, Doty SB, Lane JM, and Burstein AH: Studies of the mechanism by which the mechanical failure of polymethylmethacrylate leads to bone resorption. *J Bone Joint Surg* 75A:802-813, 1993.
3. Callaghan JJ: The clinical results and basic science of total hip arthroplasty with porous-coated prostheses. *J Bone Joint Surg* 75A:310, 1993.
4. Horowitz SM, Frondoza CG and Lennox DW: Effects of polymethylmethacrylate exposure

- upon macrophages. *J Orthop Res* 6:827-832, 1988.
5. Salvati EA, Betts F, Doty SB: Particulate metallic debris in cemented total hip arthroplasty. *Clin Orthop* 293:160-173, 1993.
 6. Santavirta S, Sorsa T, Konttinen YT, et al.: Role of mesenchymal collagenase in the loosening of total hip prosthesis. *Clin Orthop* 290:206-215, 1993.
 7. Santavirta S, Hoikka V, Eskola A, et al.: Aggressive granulomatous lesions in cementless total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg* 72B:980-984, 1990.
 8. Tellebaum SL and Kahn, AJ: Mononucleus phagocytes, osteoclasts and bone resorption. *Miner Electro Metab* 3: 2-9, 1980.
 9. Anderson RE, Woodbury DM and Jee WSS: Humoral and ionic regulation of osteoclast activity. *Calcif Tissue Int* 39:252-258, 1986.
 10. Evans CH, Stefanovic-Racic M, Lancaster J. Nitric oxide and its role in orthopaedic disease. *Clin Orthop* 312:275-294, 1995.
 11. Fox SW, Chambers TJ, Chow JW. Nitric oxide is an early mediator of the increase in bone formation by mechanical stimulation. *Am J Physiol* 270:E955-960, 1996.
 12. Sunyer T, Rothe L, Jiang X, et al. Proinflammatory agents, IL-8 and IL-10, upregulate inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in avian osteoclast-like cells. *J Cell Biochem* 60:469-483, 1996.
 13. Hukkanen M, Hughes FJ, Buttery LD, et al. Cytokine-stimulated expression of inducible nitric oxide synthase by mouse, rat, and human osteoblast-like cells and its functional role in osteoblast metabolic activity. *Endocrinology* 136:5445-5453, 1995.
 14. Riancho JA, Zarrabeitia MT, Fernandez-Luna JL, et al. Mechanism controlling nitric oxide synthesis in osteoblasts. *Molecular and Cell Endocrinol* 107: 87-92, 1995.
 15. Riancho JA, Salas E, Zarrabeitia MT, et al. Expression of functional role of nitric oxide synthase in osteoblast-like cells. *J Bone Miner Res* 10:439-446, 1995.
 16. Brandi ML, Hukkanen M, Umeda T, et al. Bidirectional regulation of osteoclast function by nitric oxide synthase isoforms. *Proc National Acad Sci USA* 92:2954-2958, 1995.
 17. Vollmar AM, Schulz R. Atrial natriuretic peptide inhibits nitric oxide synthesis in mouse macrophages. *Life Sci* 56:PL149-155, 1995.
 18. Liu TK, Liu SH, Chang CH, Yang RS. Concentration of metal elements in the blood and urine in the patient with cementless total knee arthroplasty. *Tohoku J. Exp. Med.* 185:253-262, 1998.