

| | |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title | 腫瘍性疾患および反応性肉芽組織中の多核巨細胞形成に関する電顕組織化学的研究： 組織の環境における多核巨細胞および単核細胞の形態変化 |
| Sub Title | |
| Author | 穴澤, 卯圭(Anazawa, Ukei) 戸山, 芳昭(Toyama, Yoshiaki) |
| Publisher | 慶應医学会 |
| Publication year | 2007 |
| Jtitle | 慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.2 (2007. 6) ,p.T11- T22 |
| JaLC DOI | |
| Abstract | |
| Notes | 学位論文 |
| Genre | Journal Article |
| URL | https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070601-0011 |

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

学位論文

腫瘍性疾患および反応性肉芽組織中の多核巨細胞形成に関する
電顕組織化学的研究
—組織の環境における多核巨細胞および単核細胞の形態変化—

慶應義塾大学整形外科学教室

(指導：戸山芳昭教授)

あなざわ うい
穴澤 卯 圭

(平成 18 年 12 月 26 日受付)

Key Words : multinuclear giant cells, tartrate resistant acid phosphatase, ultrastructure

緒 言

一般に運動器における多核巨細胞としては、骨の吸収に携わる破骨細胞、感染などの炎症、異物反応の結果として生じる多核巨細胞が挙げられる。さらに、骨軟部腫瘍性疾患においては破骨細胞とほぼ同様の形態およびマーカーを示す破骨細胞様巨細胞が、骨および腱鞘巨細胞腫などで観察される。いずれの多核巨細胞も、その前駆細胞である単核細胞が互いに細胞融合という特殊な過程を経て複数の核を有する巨大な細胞になる¹⁾。多核巨細胞の起源については、破骨細胞、異物巨細胞とともに単核食細胞系 (mononuclear phagocytic system : MPS) に属し、破骨細胞については、近年その分化形成のメカニズムの研究が急速に進み、造血幹細胞の単球マクロファージ系由来の前破骨細胞より形成されると考えられている。一方、異物巨細胞は血液単球由来のマクロファージが前駆細胞と考えられているが、その形成の詳細は明らかでない。また、腫瘍に存在する破骨細胞様多核巨細胞についても、腫瘍組織内に観察される単核間質細胞の一部が融合して形成されると考えられているが、間質細胞自体

の由来は明らかでなく、腫瘍に反応性に生じた MPS 由来か腫瘍細胞の一部かは明らかでない。

形態学的に、それぞれの多核巨細胞は多数の核を持つ大型の細胞として認識され、光顕的に破骨細胞、反応性多核巨細胞、破骨細胞様多核巨細胞の区別が困難な場合が多く、酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (tartrate resistant acid phosphatase : TRAP) が *in vivo*, *in vitro* の系において超微形態学的特徴と共に破骨細胞およびその前駆細胞のマーカーとして用いられている^{2, 3)}。しかし、腫瘍性疾患に生じる破骨細胞様巨細胞も TRAP 陽性で、様々な異物粉に対する反応性の巨細胞についても *in vitro* モデルで TRAP 活性を呈することが報告されている。また、Radzun ら⁴⁾は刺激された単球や肺泡マクロファージの TRAP 活性を示し、*in vitro* の系で TRAP が MPS 細胞の分化時のマーカーであることを示唆した。

多核巨細胞の超微形態については、破骨細胞は骨接着面に波状縁 (brush border) と呼ばれる突起が存在し明体を形成することが大きな特徴で、細胞内小器官としては発達したミトコンドリア、核周辺の多数のゴルジ装

本論文は、Anazawa U, Hanaoka H, Morioka H, Morii T, Toyama Y : Ultrastructural cytochemical and ultrastructural morphological differences between human multinucleated giant cells elicited by wear particles from hip prostheses and artificial ligaments at the knee. *Ultrastructural Pathology* 28 (5-6) : 353-359 ; 2004 の一部、Anazawa U, Hanaoka H, Shiraishi T, Morioka H, Morii T, Toyama Y : Similarities between giant cell tumor of bone, giant cell tumor of tendon sheath, and pigmented villonodular synovitis concerning ultrastructural cytochemical features of multinucleated giant cells and mononuclear stromal cells. *Ultrastructural Pathology* 30 (3) : 151-158, 2006 の一部を、許可を得て引用した。

置を有する。腫瘍性疾患に生じる破骨細胞様巨細胞は、破骨細胞様の特徴に加え、粗面小胞体が発達し線維芽細胞様の特徴を示す例や、組織球の特徴で貪食能を示唆するシデロゾームが観察される場合もある。一方、異物巨細胞については発達した偽足、突起が最大の特徴で、核内の核小体が発達し、核膜に沿って偏在するヘテロクロマチンと発達したユークロマチンが特徴的な場合があるが、経時的に細胞の微細構造は変化し破骨細胞と区別が困難な場合がある⁵⁾。

骨巨細胞腫 (GCTB)、腱鞘巨細胞腫 (GCTTS)、色素絨毛性結節性滑膜炎 (PVNS) は単核間質細胞と破骨細胞様多核巨細胞で形成され、それぞれの疾患の発生母地が異なるにもかかわらず、3疾患ともにその間質細胞間に散在する破骨細胞様多核巨細胞が共通の特徴とされる。GCTB は長幹骨に好発する良性骨腫瘍であるが、再発傾向が強く局所的に骨破壊を生じる^{6,8)}。一方、GCTTS と PVNS は、良性 fibrohistiocytic tumor に分類されるが、真の腫瘍性疾患なのか、腱鞘および関節滑膜より発生する特発性の増殖性疾患なのかは明らかでない^{9,10)}。破骨細胞様巨細胞の臨床的意義は不明であるが、*in vitro* では骨吸収能も確認され¹¹⁾、GCTB の破骨細胞様多核巨細胞は破骨細胞のモデルとして使用されている。GCTB の単核間質細胞については、光顕的にその形態は類円形と短紡錘型に⁸⁾、電顕的には多彩な形態を呈するが、細胞突起とライソゾームが特徴的なマクロファージ様小円形型、紡錘系の形態と発達した粗面小胞体が特徴的な線維芽細胞型とその他の超微形態の細胞に分けられる¹²⁻¹⁶⁾。GCTTS、PVNS の単核間質細胞については、光顕的にその形態は類円形あるいは多形性を呈し、様々な頻度で泡沫細胞、ヘモジデリン貪食細胞など炎症性の細胞が観察される¹⁷⁾。電顕的にこれらの間質細胞も多彩な形態を呈するが、正常滑膜細胞の A 細胞に類似するマクロファージ様細胞、および B 細胞に類似する線維芽細胞様細胞に分類され^{18,19)}、さらに Carstens ら²⁰⁾ は、豊富なミトコンドリア、粗面小胞体 (RER) と核に隣接したゴルジ装置を特徴とする単核細胞を骨芽細胞様細胞として報告した。しかし、各腫瘍の組織起源、各間質細胞の関係、および破骨細胞様巨細胞の起源となる腫瘍組織内の単核間質細胞の同定は、未だなされていない。

一方、人工関節置換術後の骨吸収を伴う人工関節弛み組織はヒト組織内の骨吸収を伴う異物反応の場であり、人工関節を構成する高分子ポリエチレン粉による慢性的な炎症反応に誘導されたマクロファージ、異物巨細胞および骨吸収を担う破骨細胞が同時に出現し、相互作用を

有していると考えられる。同部では、多核巨細胞が周囲の単核細胞とともに TRAP 陽性であり²¹⁻²³⁾、マクロファージ、異物巨細胞、破骨細胞のサイトカイン受容体が類似したパターンを示す。また TRAP 陽性多核巨細胞と破骨細胞は光顕的に形態がきわめて類似していることが報告されているが²³⁾、骨吸収能をもつのか、異物巨細胞なのか、また TRAP 陽性多核細胞と破骨細胞との関係についても、未だ不明な点が多い^{21,29)}。また、弛み組織のポリエチレン粉の多くはサブミクロン単位の大きさで、光顕的に確認することは困難であるが^{30,31)}、人工関節弛み組織および同部の TRAP 陽性多核、単核細胞によるポリエチレン粉の貪食を電顕的に詳細に検討した報告もない。一方、臨床的にヒト膝前十字靭帯断裂時にはダクロンメッシュで構成された人工靭帯が大腿骨と脛骨の骨孔に固定され、膝関節内に移植される。人工靭帯断裂時の周囲組織の検討では人工靭帯の断裂した線維、その粉末、および、それらに誘導されたマクロファージや多核巨細胞が観察されることが報告されている^{32,33)}。同部での骨吸収はまれであり、人工靭帯周囲の反応性の肉芽組織はヒト組織での人工物に対する骨吸収を伴わない異物反応の場と考えられる。

本研究は、骨、軟部発生腫瘍性疾患、および骨吸収を伴う人工関節弛み組織、骨吸収を伴わない人工靭帯周囲反応性組織に生じる多核巨細胞および単核細胞について超微形態学的に TRAP を指標として比較、検討を行い、多核巨細胞の形成過程を明確化することを目的とした。

対象と方法

1. 腫瘍性疾患群

骨原発腫瘍は GCTB 4 例で、いずれも大腿骨遠位発生例であった。軟部腫瘍として GCTTS が 4 例で、3 例が手指発生例、1 例が膝窩部の発生例、PVNS は 3 例でいずれも膝関節発生例であった。それぞれ各腫瘍の外科的治療時に組織を採取した。いずれの例も再発例はなかった。

2. 反応性組織群

反応性組織として、骨吸収を伴う人工物周囲の肉芽組織は 4 例で、人工股関節置換後の弛みが 3 例、人工骨頭挿入術後の弛みが 1 例であった。それぞれ人工股関節の再置換時に骨吸収部の肉芽組織を採取した。

骨吸収を伴わない人工物周囲の肉芽組織は 3 例で、い

ずれも膝前十字靭帯断裂に対し Leeds-Keio 人工靭帯で再建を行った例であり、人工靭帯断裂後の再置換術時に人工靭帯と骨孔部の間に生じていた肉芽組織を採取した。

以上の検体の使用に当たって、十分に患者に説明し、同意を得て本研究を遂行した。

3. 電顕組織化学

手術中に採取した各種瘍組織と反応性組織を、直ちに細切し 0.1 M カコジレート緩衝液で緩衝した 0.5% グルタルアルデヒド、4% パラフォルムアルデヒド混合液で 4℃、90 分間の前固定を行い、8% ショ糖、0.1 M カコジレート緩衝液で一夜洗浄した。TRAP 活性の検出のため 50 mM 酒石酸と 0.2 mM アセテート緩衝液 (pH: 5.5) で 37℃、2.5 時間前処置を行った後、ショ糖 2 g、3% β グリセロン酸 2.5 ml、硝酸塩 25 mg を 0.05M アセテート緩衝液 (pH: 5.0) で緩衝した反応液に 37℃、30 分の浸漬を行った。次に 0.1M カコジレート緩衝液と 1% OsO₄ で 4℃、1 時間の後固定を行い、次いでエタノール系列で脱水、エポキシ樹脂に包埋した。包埋した組織を透過型電子顕微鏡 (Hitach HU-12AS) で観察した。

結 果

1. 腫瘍性疾患群

1) 多核巨細胞

GCTB、GCTTS および PVNS における多核巨細胞は主にゴルジ装置に TRAP 活性を認め、ライソゾームにも TRAP 活性を認めた。超微形態については、GCTB と GCTTS の多核巨細胞は破骨細胞様の特徴、すなわち豊富なミトコンドリア、RER、ゴルジ装置、中程度に発達したライソゾーム、小胞、さらに部分的にはシデロゾームを認めた。また、核は卵円形、あるいは楕円形で、しばしば陥凹を認め、クロマチンは核周辺部に薄く濃縮していた (第 1 図 A)。また、GCTB および GCTTS では、より発達した RER、およびシデロゾームが特徴的な 2-3 個の核を有する小さな多核細胞がしばしば観察された (第 1 図 B)。さらに、GCTTS の 1 例では、破骨細胞の特徴である波状線を呈する TRAP 陽性の多核巨細胞が観察された (第 2 図)。一方、GCTTS と PVNS ではライソゾーム、シデロゾーム、中程度に発達した偽足、突起、RER が発達したよりマクロファージに近い形態学的特徴を持った多核巨細胞が低頻度で観察され、微弱な TRAP 活性をゴルジ装置に認めた (第 3 図)。PVNS については、典型的な電顕的特徴をもつ

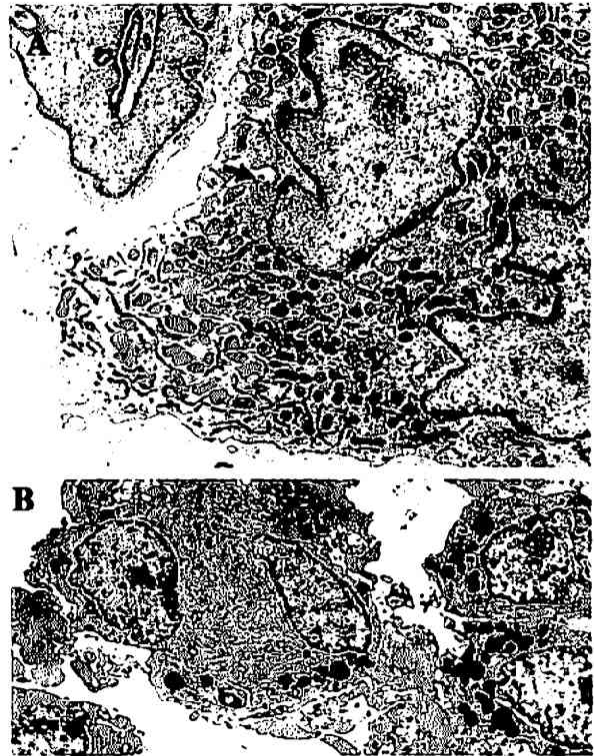


図 1 TRAP 陽性多核巨細胞

A: GCTTS の多核巨細胞。TRAP 活性をゴルジ装置 (矢印)、ライソゾーム (矢頭) に認める (×2000)。

B: GCTB の小さな多核巨細胞。RER の発達に否明で TRAP 活性をライソゾームに認める (×1500)。

(Anazawa U et al: Ultrastruct Pathol 30: 151-158, 2006 の Fig 1 を許可を得て転載)



図 2 波状線を呈する GCTTS の多核巨細胞と隣接する破骨細胞様単核細胞

多核巨細胞の波状線の周囲に TRAP 活性を示すライソゾームを認める (矢頭)。さらに、隣接する破骨細胞様単核細胞に極性をもった偽足、突起が観察される (×2500)。

(Anazawa U et al: Ultrastruct Pathol 30: 151-158, 2006 の Fig 2 を許可を得て転載)

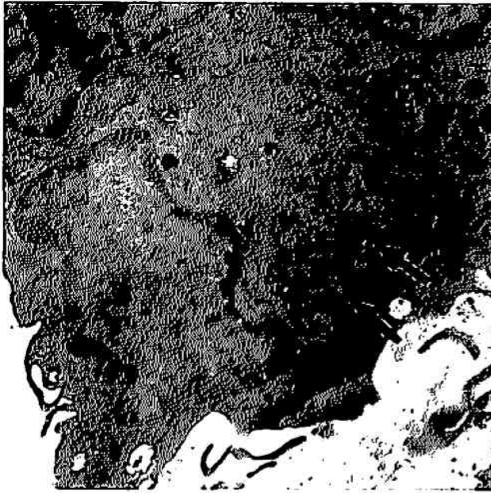


図3 マクロファージ様多核巨細胞

偽足が観察され、TRAP 活性はゴルジ装置に弱く陽性 (矢印) である (×2400).
(Anazawa U et al : Ultrastruct Pathol 30 : 151-158, 2006 の Fig 3 を許可を得て転載)

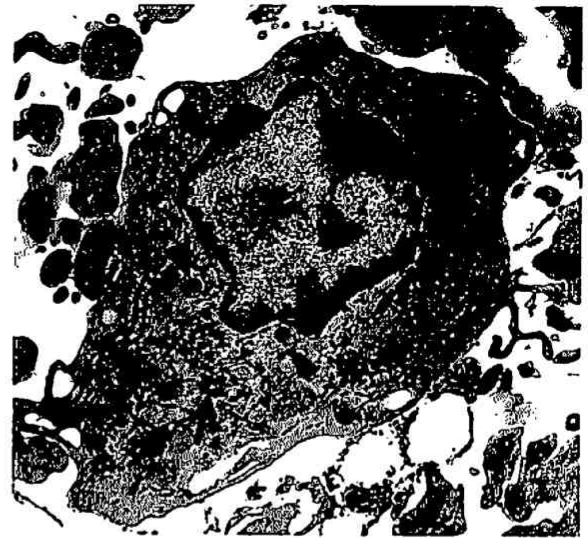


図5 マクロファージ様細胞

TRAP 活性をゴルジ装置 (矢印)、ライソソーム (矢頭) に認める (×4800).
(Anazawa U et al : Ultrastruct Pathol 30 : 151-158, 2006 の Fig 5 を許可を得て転載)

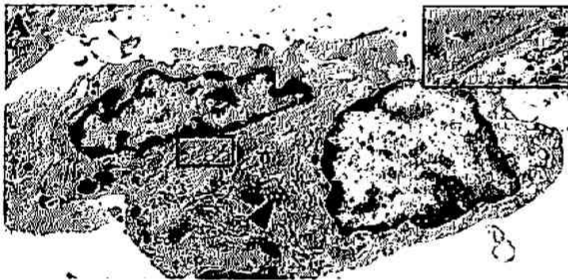


図4 破骨細胞様単核細胞

A : GCTB の破骨細胞様単核細胞, TRAP 活性をライソソームに認め (矢頭), 隣接するマクロファージ様単核細胞との間に細胞接着を認める (inset) (×2400).
B : GCTTS の破骨細胞様単核細胞, TRAP 活性をライソソーム, ゴルジ装置に認め (矢印), 発達したシテロソームも観察される (×3000).
(Anazawa U et al : Ultrastruct Pathol 30 : 151-158, 2006 の Fig 4 を許可を得て転載)

破骨細胞様多核巨細胞は確認できなかった。

2) 単核細胞

GCTB, GCTTS, PVNS においては、諸家の報告と同様に多彩な超微形態を呈する単核細胞が観察され、マクロファージ様、線維芽細胞様、その他の特徴をもつ細胞を認めた。一方、TRAP 陽性単核細胞も同様に各腫瘍に観察され、超微形態学的に以下のように3つに分類できた。

a) 破骨細胞様単核細胞

これらは GCTB に観察された小さな破骨細胞様多核細胞に形態が酷似し、豊富なミトコンドリアと発達した RER が特徴的で、TRAP はゴルジ装置とライソソームに陽性であった (第4図A), また、シテロソームも観察され、食食能を持つものと推測した (第4図B)。さらに GCTTS の1例では、波状緑様の構造を呈した巨細胞に隣接した部分で、破骨細胞様単核細胞にも極性をもった波状緑様の発達した偽足、突起が観察された (第2図)。

b) マクロファージ様細胞

これらの細胞はマクロファージ様の超微形態である多数のライソソーム、中程度に発達したミトコンドリアと RER を特徴とし、TRAP 活性はゴルジ装置とライソソームに陽性であった (第5図)。

c) 未分化単核細胞

これらの細胞は乏しい細胞内小器官と細胞質が特徴的で、TRAP 活性はゴルジ装置とライソソームに陽性で



図6 未分化単核細胞

A：TRAP 活性をゴルジ装置（矢印）に認める（×2100）。
B：隣接したマクロファージ様細胞との細胞接着を認める（×4000）。
(Anazawa U et al: Ultrastruct Pathol 30: 151-158, 2006 の Fig 6 を許可を得て転載)

あった（第6図）。さらにGCTTSの1例では、これらの未分化単核細胞が集束し細胞膜融合を呈していた（第7図）。

GCTBとGCTTSにおいて、これらの3つのTRAP陽性細胞と他の細胞の間に細胞間基質を介した細胞間接着構造が様々な頻度で観察された（第4A、6図）。

2. 反応性疾患群

1) 人工関節周囲組織

多核巨細胞は様々な超微形態学的特徴を示し以下のよう
に分類できた。一つは破骨細胞様の超微形態であるミ
トコンドリアの発達が著明でTRAP活性をライソゾ
ームとゴルジ装置に呈する破骨細胞様多核巨細胞で、ポリ
エチレン粉の取り込みも細胞質内に認めた（第8図）。
他の一つは超微形態学的に異物巨細胞様の特徴である発
達した偽足、突起、異物粉の取り込み、比較的発達した
ミトコンドリアを呈し、TRAP活性がライソゾームに
陽性であった異物巨細胞様多核巨細胞であった。これら
のTRAP陽性多核巨細胞には、明らかに異物の取り込
みを認めたため、機能的には異物巨細胞と考えられた。
さらに、細胞膜の偽足、突起を認めるものの、乏しい細
胞内小器官と細胞質の部分的な消失、核の変性を認め、
細胞質中が多数のファーゴゾームで満たされた多核巨細
胞も観察された。細胞外基質中にはTRAP陽性のライ
ソゾーム様デブリスと細胞内小器官の断片が観察された
ことより、この多核巨細胞は変性した多核巨細胞と考え
た。

TRAP陽性単核細胞は超微形態学的にマクロファ
ージに類似し、中程度に発達した偽足とライソゾーム、お
よびゴルジ装置とphagocytic vacuolesを呈した。
TRAP活性はゴルジ装置に陽性であった（第9図）。一
方、破骨細胞様、あるいは前破骨細胞様の特徴である豊



図7 未分化単核細胞

A：集束し細胞融合を呈する未分化単核細胞（×1600）。
B：細胞膜融合を認め（矢頭）、TRAP活性をゴルジ装置に認める
（矢印）（×10000）。
(Anazawa U et al: Ultrastruct Pathol 30: 151-158, 2006 の Fig 7 を許可を得て転載)

富なfreeリボソーム、乏しいRER、を呈したTRAP
陽性単核細胞は観察されなかった。

2) 人工靭帯周囲組織

観察された多核巨細胞は、超微形態学的に異物巨細胞
様の特徴である極めて発達した偽足、突起、豊富なライ
ソゾーム、中程度に発達したミトコンドリアを呈し、
TRAP活性をライソゾームに強く、ゴルジ装置とRER
に弱く認めた。さらに、これらのTRAP陽性多核巨細
胞には人工靭帯の断片の取り込みを認め、超微形態学的
、機能的に異物巨細胞と推測された（第10図）。TRAP陽
性単核細胞は、TRAP活性をライソゾームとRERに認
め、TRAP陽性多核巨細胞と同様に極めて発達した偽
足、突起および発達したライソゾームと中程度のミトコ
ンドリアを呈し、超微形態学的には貪食細胞であるマク
ロファージと考えた。

考 察

本研究では、腫瘍性疾患および反応性組織にそれぞれ
TRAP活性を呈する多核巨細胞と単核細胞が観察され

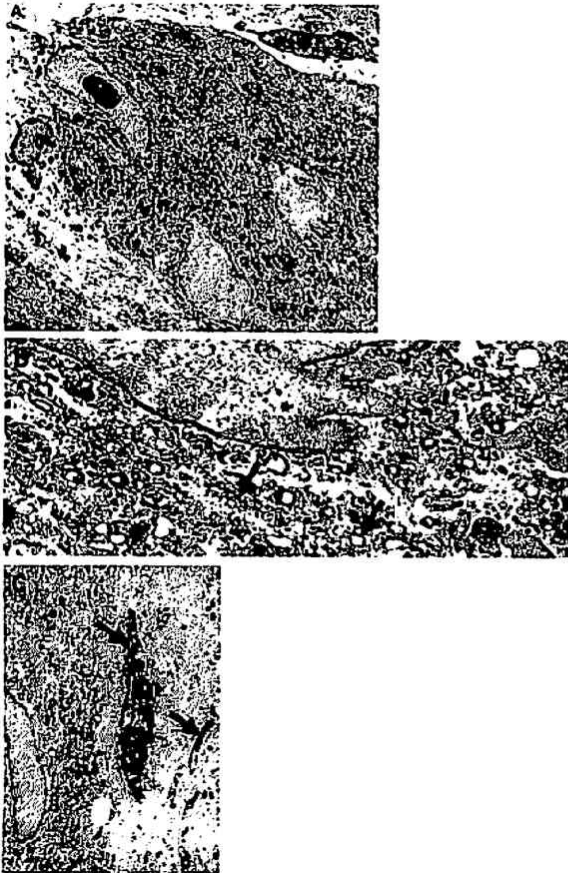


図8 破骨細胞様多核巨細胞

A : 豊富なミトコンドリアを認める (×3300).
 B : TRAP 活性をライソソーム, ゴルジ装置 (矢印) に認める (×9000).
 C : 細胞内に取り込まれたポリエチレン粉 (矢印) を認める (×6000).
 (Anazawa U et al : Ultrastruct Pathol 28 : 353-359, 2004 の Fig 1 を許可を得て転載)

ることを示し、さらに、超微形態学的には TRAP 陽性多核巨細胞が各疾患、病態において異なる超微形態を呈することを示した。一方、単核細胞については、腫瘍性疾患では多彩な超微形態を呈したが、共通の超微形態を呈する TRAP 陽性の単核細胞群が各腫瘍に存在することを明らかにし、反応性組織では骨吸収の有無にかかわらず TRAP 陽性単核細胞はマクロファージ様の形態を呈していることを示した (表1)。

破骨細胞様多核巨細胞の出現が共通の特徴とされる GCTB, GCTTS, PVNS については、破骨細胞様巨細胞の前駆細胞は同定されておらず、各間質単核細胞の起源も未だ明確でない。GCTB については、破骨細胞様多核巨細胞が腫瘍内の骨破壊の場で一般の破骨細胞と同様に形成されるのか、あるいは腫瘍に反応した MPS 由来なのか、あるいは腫瘍由来の単核細胞より形成された



図9 TRAP 陽性単核細胞

TRAP 活性をゴルジ装置に認め (矢印), 中程度に発達した偽足とライソソーム, およびゴルジ装置と phagocytic vacuoles を認める (×6000).
 (Anazawa U et al : Ultrastruct Pathol 28 : 353-359, 2004 の Fig 4 を許可を得て転載)



図10 人工靭帯周囲組織の TRAP 陽性異物細胞様巨細胞

超微形態学的に異物巨細胞様の特徴: 極めて発達した偽足, 突起, 豊富なライソソーム, 中程度に発達したミトコンドリアを認め, TRAP 活性をライソソームに認める (矢頭). また, 人工靭帯の断片の取り込み (矢印) を認める (×6700).
 (Anazawa U et al : Ultrastruct Pathol 28 : 353-359, 2004 の Fig 5 を許可を得て転載)

のか明らかではなく、また様々な形態をとる各単核間質細胞についても、腫瘍性と反応性のものが混在していると考えられ、その発生由来については間葉系あるいは MPS 由来との報告があり、現在でもきわめて混乱している^{13, 34)}。一方、GCTTS, PVNS の組織起源については、その間質細胞と滑膜細胞の超微形態学的な類似性より従来は滑膜細胞由来と考えられていた^{18, 35)}。しかし、近年、各腫瘍の単核細胞に組織球様マーカーが陽性であること、単核細胞が融合して形成される多核巨細胞が破骨細胞様の形態、形質を呈することより、増殖性の部分は MPS 由来であることが示唆されている^{9, 36, 37)}。さらに、その成因については慢性的な炎症の存在が関連する

表 1 TRAP 陽性細胞群

| 超微形態 | 腫瘍性疾患 | | | 反応性疾患 | |
|-------|----------|-------|------|--------------|--------------|
| | 骨発生 | 軟部発生 | | 人工関節 弛み組織 | 人工韧带 周囲組織 |
| | GCTB | GCTTS | PVNS | | |
| 多核巨細胞 | 破骨細胞様 | ● | ● | ○ | |
| | 異物巨細胞様 | | ● | ● | ○ |
| 単核細胞 | 破骨細胞様 | ● | ● | ● | |
| | マクロファージ様 | ● | ● | ● | ○ |
| | 未分化 | ● | ● | ● | |

との報告もある³⁹⁾。しかし、GCTTS、PVNS の組織起源、各間質細胞の関係、および多核巨細胞を形成する単核細胞については GCTB 同様、未だ明らかでない。

TRAP を指標とした破骨細胞様多核巨細胞および単核細胞の検討については報告が限られており、超微形態学的な検討は Mii ら³⁹⁾ が GCTB について報告しているのみで、破骨細胞様多核巨細胞およびマクロファージ様単核細胞が TRAP 活性を呈することを示した。また、GCTTS と PVNS については、光顕的に Darling ら⁹⁾ が多核巨細胞と単核細胞の一部が TRAP 活性と破骨細胞様形質を呈することを報告し、多核巨細胞が MPS 由来であり、骨組織以外の場である滑膜組織で多核巨細胞が破骨細胞様の形質をとりうることを示唆したが、破骨細胞様多核巨細胞の起源である間質単核細胞については同定されていない。

本研究において、骨および腱鞘、関節滑膜と異なった発生母地より生じた腫瘍性組織に、共通の超微形態をとる TRAP 陽性多核巨細胞と単核細胞群が存在することが明らかとなった。

多核巨細胞については、本研究において GCTB と GCTTS に従来報告されている破骨細胞様多核巨細胞だけでなく、破骨細胞様超微形態に加え発達した RER とシテロゾームを特徴とする小型の多核巨細胞が TRAP 活性を呈することが観察された。GCTB や GCTTS の多核巨細胞の核の数は様々であるが、一般的に 10 個以上より形成される^{7, 40)}。小型多核巨細胞についての報告は限られており、Kusuzaki ら⁴¹⁾ が GCTB の 2 核の巨細胞を蛍光顕微鏡で観察し、2 核の巨細胞と多核巨細胞の数は相関すること、さらに Seki ら⁴²⁾ は骨巨細胞腫の proliferating cell nuclear antigen (PCNA) の発現を検討し、PCNA を単核細胞と 2 核の多核巨細胞には認めしたが、一般の多核巨細胞にはその発現を認めなかったことを報告した。これらのことより、小型多核巨細胞は活

動性の高い細胞で多核巨細胞の形成の初期段階であることが推測される。本研究で示した TRAP 陽性小型多核巨細胞と破骨細胞様単核細胞との電顕組織化学的類似性は、多核巨細胞の形成初期の段階で両者がきわめて密接な関係にあることを強く示唆していると考えられた。

単核間質細胞については、超微形態学的に各種瘍で様々な形態を示したが、TRAP 陽性単核細胞群は破骨細胞様、マクロファージ様、未分化型の三つに分類できた。各種瘍に観察された破骨細胞様単核細胞は豊富なミトコンドリア、RER とゴルジ装置の TRAP 活性が特徴的であり、しばしばシテロゾームも観察された。これらの超微形態は、GCTTS の超微形態学的検討で Alguacil-Garcia ら¹⁸⁾ が報告した、RER が発達した A 細胞様単核細胞、あるいは Carstens ら²⁰⁾ が報告した骨芽細胞様細胞に超微形態学的に類似していると考えられた。また、マクロファージ様細胞は中程度のミトコンドリア、RER、ライソゾームの発達の特徴的で、未分化型は細胞質、細胞内小器官が乏しく、いずれも TRAP 活性はライソゾーム、ゴルジ装置に陽性であった。上記の各種瘍に共通に観察された単核細胞群は TRAP 陽性であること、ライソゾームやシテロゾームの存在より、MPS に属する一連の細胞群であることが強く示唆された。

一方、本研究では GCTB と GCTTS の TRAP 陽性単核細胞に、細胞膜の裏打ち構造を認める細胞接着構造が観察された。自験例と同様の細胞接着は Alguacil-Garcia ら¹⁸⁾ も GCTTS の間質細胞に観察し、これらの細胞接着は、一般にヒト正常滑膜には存在せず外傷性の滑膜炎やリュウマチ性滑膜炎に観察されることから、GCTTS は真の腫瘍性疾患でなく滑膜の炎症性、増殖性疾患であると結論付けた。一方、近年、炎症性の滑膜組織の MPS 細胞から破骨細胞様細胞への分化モデルも、Danks ら⁴³⁾ が報告している。また、自験例と同様の細胞接着構造を Nakamura and Ozawa⁴⁴⁾ は、ラットにお

ける間質細胞と破骨細胞の間に観察し、破骨細胞の分化形成における細胞間相互作用の重要性を強調し、さらに、Ejiriら⁴⁵⁾は、活性型ビタミンD投与下の*in vitro*の系でマクロファージが細胞接着を呈し多核化することを超微形態学的に報告した。これらのことより、何らかの刺激を受けたMPS細胞は細胞接着を呈し多核化することが推測される。本研究で観察されたTRAP陽性単核細胞群も、MPS細胞の分化能を反映すると考えられるTRAP活性を呈していることより、細胞が何らかの刺激を受け、細胞間接着構造を呈し、多核能が亢進している可能性が示唆された。

以上より、破骨細胞様単核細胞が、破骨細胞様多核巨細胞の骨内、骨外腫瘍組織における共通の前駆細胞で、さらにTRAP陽性多核、単核細胞群が各腫瘍に共通に観察された事実より、これらのTRAP陽性細胞群の由来は腫瘍性のものでなく、異なる各腫瘍性組織に誘導された反応性のMPSに属すると推測された。

一方、GCTTSとPVNSに観察された微弱なTRAP活性を呈するマクロファージ様多核巨細胞は細胞突起とシデロゾームが特徴的で、機能的に貪食能の保持を示唆した。電顕的にマクロファージ様多核巨細胞の報告はないが、光顕的にはRao and Vigorita⁴⁶⁾がGCTTSとPVNSの腫瘍間質細胞内に貪食巨細胞様の巨細胞の存在を報告しており、今回の電顕的検討で認められたものと同じものと考えられた。超微形態学的に貪食能の保持が示唆されるマクロファージ様多核巨細胞の存在は、GCTTS、PVNSにおける炎症性の病態を反映しているのではないかと考えられた。また、本研究では多核巨細胞の波状縁様の極性を持った細胞突起の発達を示す破骨細胞様単核細胞、未分化細胞の細胞間の膜融合がGCTTS例で観察された。これらの所見についてはGCTBでは報告がなく、この事実は間質単核細胞の多核化の経路が骨組織であるGCTBと滑膜増殖性疾患であるGCTTS、PVNSでは異なり、より未分化な細胞からの多核化、および破骨細胞様形態への分化傾向がGCTTSに存在し、その経路が多彩である可能性を示唆するものと考えられる。さらには、一般の破骨細胞と異なったMPS単核細胞からの多核化および破骨細胞化の経路が滑膜増殖性病変に存在する可能性を示唆するものとして着目すべき所見と考えられた。

一方、本研究ではTRAP陽性多核巨細胞が、骨吸収を伴う人工関節弛み組織において異物の貪食能を保持しつつ破骨細胞様の超微形態を呈すること、骨吸収を伴わない人工関節周囲組織ではTRAP活性を示しても異物巨細胞の超微形態を保持していることを示した。また人

工関節周囲組織には多核、単核細胞とも破骨細胞様の超微形態を呈したものは観察されず、これらのTRAP陽性多核、単核細胞はMPS由来の活発な食細胞と考えられた。

人工関節弛み組織の骨吸収については、摩耗粉が異物反応を誘発し、活性化したマクロファージから分泌された炎症物質が破骨細胞を分化誘導、活性化し骨吸収を誘発する⁴⁷⁻⁵¹⁾との考えが一般的であるが、異物反応に誘導されたマクロファージが多核巨細胞に分化し直接骨吸収を行う可能性も示唆されている⁵²⁾。*In vivo*モデルにおいては、異物巨細胞と破骨細胞の超微形態学的類似性が以前より示されており、骨粉に誘導された異物巨細胞と破骨細胞の両者が細胞間にまたがる細胞突起の構造を示すこと⁵³⁾、さらに骨粉あるいはハイドロキシapatiteに誘導された異物多核巨細胞はTRAP活性と波状縁および破骨細胞に類似した細胞内小器官の特徴を呈すること^{26, 27)}が報告されている。一方では破骨細胞が異物の貪食能を持つ可能性を示唆する報告も散見され、Isaki and Hanaoka³⁾は、高濃度の上皮小体ホルモンを投与した胎児マウスのモデルで石灰化軟骨を貪食していると思われる破骨細胞を示し、Wangら⁵⁴⁾は*in vitro*の系で、破骨細胞が骨吸収能を保持しつつ、貪食能を呈することを報告した。以上のことは、異物巨細胞と破骨細胞の両者が何らかの条件下では互いの機能を持ちうる可能性を示している⁵⁵⁾。しかし、実際にヒト組織内で異物巨細胞が破骨細胞様の機能を持ちうるのか否かは未だ明らかでない。本研究ではヒト組織内でも骨吸収を伴う人工関節弛み組織においては、異物反応で生じた反応性巨細胞がTRAP活性を示し破骨細胞様の超微形態を示すことが明らかとなり、これらの細胞が異物の貪食能をもちながら、破骨細胞と同様に骨吸収能を持つ可能性が示された。

また、本研究では人工関節弛み組織および人工関節周囲組織の両者で、前破骨細胞のような破骨細胞様の超微形態を示すTRAP陽性単核細胞を確認できなかった。TRAP陽性単核細胞がいずれもマクロファージの形態を維持していたこと、人工関節周囲組織では多核巨細胞がTRAP活性を呈しつつ異物巨細胞の形態を維持していた一方で、人工関節弛み組織では多核巨細胞が異物巨細胞の形態や破骨細胞様の超微形態など多彩な超微形態を示した事実は考慮すべき点である。これらの所見より、多核巨細胞の超微形態学的変化は単核細胞ではなく多核化した後に生じ、その変化は骨吸収等の周囲の組織環境に影響されることが推測された。

多核巨細胞の形成については、単核細胞が融合して形成されると考えられ、破骨細胞の前駆細胞である前破骨

細胞は破骨細胞とほぼ同様の細胞内小器官の特徴を示す。本研究では、腫瘍性疾患においても破骨細胞様多核巨細胞の前駆細胞と考えられる破骨細胞様単核細胞が観察されたが、人工関節弛み組織においては破骨細胞様の多核巨細胞を観察したものの、破骨細胞様の超微形態を示す TRAP 陽性単核細胞は確認できなかった。破骨細胞の形成については、その制御因子としてマクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF)、および Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) の両者が重要とされる。しかし、RANKL から独立した系でも、炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子：TNF (tumor necrosis factor) - α とインターロイキン 1 (IL-1) の併用処理でマウスの骨髄細胞より破骨細胞の分化誘導が認められ⁵⁶⁾、人工関節弛み組織より採取されたマクロファージも M-CSF と TNF- α 、IL-1 の存在下で、破骨細胞のマーカーが陽性で骨吸収能を持つ多核巨細胞へ分化することが示されている⁵⁷⁾。さらに、本研究では骨外環境で炎症性環境が存在する GCTTS で TRAP 陽性細胞群の活発な多核化、破骨細胞様変化が観察された。これらのことは、正常ヒト組織でも RANKL から独立した系で破骨細胞様の形質を呈する多核巨細胞が生じ得ることを強く示唆している。また、本研究で示したように腫瘍性の破骨細胞様巨細胞については、機能的には貪食細胞である組織球様特徴も示し、前駆細胞が前破骨細胞ではない事実、また、骨外増殖性疾患である GCTTS では TRAP 陽性細胞群がより強く破骨細胞様の特徴、および多核化の傾向を示していたこと、さらに、異物反応組織では TRAP 陽性異物巨細胞の段階で破骨細胞様の超微形態を呈したことより、実際のヒト組織内で破骨細胞が単球、前破骨細胞の分化経路だけでなく、周囲の組織環境によっては分化したマクロファージ系の単核細胞より形成される可能性、また多核化した後に破骨細胞化する可能性など複数の経路をもつことが推測された。

総 括

腫瘍および異物反応性組織に生じる多核巨細胞の形成過程を調べるため、TRAP を指標とした電顕組織化学的検討を行い、以下の結果を得た。

1. TRAP 陽性多核巨細胞と単核細胞が GCTB、GCTTS、PVNS の各種瘍組織に、また骨吸収を伴う人工関節弛み組織および骨吸収を伴わない人工靭帯周囲組織に観察された。
2. 腫瘍性疾患の組織では各種瘍組織に共通の超微形態学的特徴をもつ TRAP 陽性多核巨細胞と単核細胞

群が観察され、小型多核巨細胞と破骨細胞様単核細胞が超微形態学的にきわめて類似し、細胞間接着構造も確認された。

3. 骨外病巣である GCTTS の TRAP 陽性単核、多核巨細胞は GCTB に比して多彩な超微形態を示し、より強い破骨細胞様特徴が破骨細胞様多核巨細胞および単核細胞の段階で確認された。
4. 反応性組織では異物の貪食を認め機能的には異物巨細胞と考えられる多核巨細胞が、人工関節弛み組織では TRAP 活性を呈し破骨細胞様の超微形態を示すことを観察したが、TRAP 陽性単核細胞、および人工靭帯周囲組織の TRAP 陽性多核細胞は一般のマクロファージや異物巨細胞と同様の超微形態であった。
5. 以上の結果より、腫瘍性の破骨細胞様多核巨細胞と TRAP 陽性単核細胞群は共通の MPS 細胞群で、TRAP 陽性で破骨細胞様多核巨細胞を形成する組織の環境がヒト組織内の骨内外の組織に存在することが推測され、さらに多核巨細胞は骨吸収を伴う反応性の組織では、異物巨細胞への分化後であっても周囲の組織環境で形態が破骨細胞様に変化し、ヒト組織内でも異物巨細胞が TRAP 活性を呈し破骨細胞様の形態をとりうることを示された。これらのことから、ヒト組織内で MPS 細胞が様々な経路で破骨細胞様の性質を持ちうることを示唆された。

本稿を終えるにあたり、ご指導、御高閲を賜りました慶應義塾大学整形外科教室戸山芳昭教授に深甚なる謝意を表します。また、直接研究のご指導をいただきました元慶應義塾大学整形外科教室助教授、現井上記念病院名誉院長花岡英弥博士に深謝いたします。また、臨床材料を提供していただき、適切なるご助言、ご協力くださいました整形外科教室諸兄に感謝いたします。また、電子顕微鏡の実験にご協力いただいた慶應義塾大学医学部付属電子顕微鏡研究室諸兄に深謝いたします。なお、本論文の要旨の一部は、第 29 回日本整形外科学会・軟部腫瘍学術集会 (1996, 札幌)、第 4 回 Combined Meeting of the American and European Musculoskeletal Tumor Societies (1998, ワシントン DC)、および第 28 回日本人工関節学会 (1998, 金沢) において発表した。

文 献

- 1) Yagi M, Miyamoto T, Sawatani Y, Iwamoto K,

- Hosogane N, Fujita N, Morita K, Ninomiya K, Suzuki T, Miyamoto K, Oike Y, Takeya M, Toyama Y, Suda T : DC-STAMP is essential for cell-cell fusion in osteoclasts and foreign body giant cells. *J Exp Med* 202 : 345-351, 2005
- 2) Minkin C : Bone acid phosphatase : tartrate-resistant acid phosphatase as a marker of osteoclast function. *Calcif Tissue Int* 34 : 285-290, 1982
 - 3) Isaki H, Hanaoka H : The effects of high dose of parathyroid hormone on fetal osteoclasts and their precursors *in vivo* : an ultrastructural-cytochemical study. *Anat Rec* 243 : 421-429, 1995
 - 4) Radzun HJ, Kreipe H, Parwaresch MR : Tartrate-resistant acid phosphatase as a differentiation marker for the human mononuclear phagocyte system. *Hematol Oncol* 1 : 321-327, 1983
 - 5) Sutton J and Weiss L : Transformation of monocytes in tissue culture into macrophage, epitheloid cells, and multinucleated giant cells : An electron microscope study. *J cell Biol* 28 : 303-332, 1966
 - 6) Goldenberg RR, Campbell CJ, Bonfiglio M : Giant-cell tumor of bone. An analysis of two hundred and eighteen cases. *J Bone Joint Surg Am* 52 : 619-664, 1970
 - 7) Unni KK : Giant cell tumor (osteoclastoma). *Dahlin's Bone Tumors*. (Ed) Unni KK, Rippincott-Raven, Philadelphia, p.263-283, 1996
 - 8) Joyner CJ, Quinn JM, Triffitt JT, Owen ME, Athanasou NA : Phenotypic characterisation of mononuclear and multinucleated cells of giant cell tumour of bone. *Bone Miner* 16 : 37-48, 1992
 - 9) Darling JM, Goldring SR, Harada Y, Handel ML, Glowacki J, Gravalles EM : Multinucleated cells in pigmented villonodular synovitis and giant cell tumor of tendon sheath express features of osteoclasts. *Am J Pathol* 150 : 1383-1393, 1997
 - 10) Neale SD, Kristelly R, Gundle R, Quinn JM, Athanasou NA : Giant cells in pigmented villonodular synovitis express an osteoclast phenotype. *J Clin Pathol* 50 : 605-608, 1997
 - 11) Athanasou NA, Quinn J, Ferguson DJ, McGee JO : Bone resorption by macrophage polykaryons of giant cell tumour of tendon sheath. *Br J Cancer* 63 : 527-533, 1991
 - 12) Hanaoka H, Friedman B, Mack RP : Ultrastructure and histogenesis of giant-cell tumor of bone. *Cancer* 25 : 1408-1423, 1970
 - 13) Zheng MH, Robbins P, Xu J, Huang L, Wood DJ, Papadimitriou JM : The histogenesis of giant cell tumour of bone : a model of interaction between neoplastic cells and osteoclasts. *Histol Histopathol* 16 : 297-307, 2001
 - 14) Aparisi T, Arborgh B, Ericsson JL : Giant cell tumor of bone : detailed fine structural analysis of different cell components. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 376 : 273-298, 1977
 - 15) Steiner GC, Ghosh L, Dorfman HD : Ultrastructure of giant cell tumors of bone. *Hum Pathol* 3 : 569-586, 1972
 - 16) Anazawa U, Hanaoka H, Shiraishi T, Morioka H, Morii T, Toyama Y : Similarities between giant cell tumor of bone, giant cell tumor of tendon sheath, and pigmented villonodular synovitis concerning ultrastructural cytochemical features of multinucleated giant cells and mononuclear stromal cells. *Ultrastruct Pathol* 30 : 151-158, 2006
 - 17) O'Connell JX, Fanburg JC, Rosenberg AE : Giant cell tumor of tendon sheath and pigmented villonodular synovitis : immunophenotype suggests a synovial cell origin. *Hum Pathol* 26 : 771-775, 1995
 - 18) Alguacil-Garcia A, Unni KK, Goellner JR : Giant cell tumor of tendon sheath and pigmented villonodular synovitis : an ultrastructural study. *Am J Clin Pathol* 69 : 6-17, 1978
 - 19) Ferrer J, Namiq A, Carda C, Lopez-Gines C, Tawfik O, Lombart-Bosch A : Diffuse type of giant-cell tumor of tendon sheath : an ultrastructural study of two cases with cytogenetic support. *Ultrastruct Pathol* 26 : 15-21, 2002
 - 20) Carstens HB : Giant cell tumors of tendon sheath. An electron microscopical study of 11 cases. *Arch Pathol Lab Med* 102 : 99-103, 1978
 - 21) Willert HG, Bertram H, Buchhorn GH : Osteolysis in alloarthroplasty of the hip. The role of ultra-high molecular weight polyethylene wear particles. *Clin Orthop* 258 : 95-107, 1990
 - 22) Kadoya Y, al-Saffar N, Kobayashi A, Revell PA : The expression of osteoclast markers on foreign body giant cells. *Bone Miner* 27 : 85-96, 1994
 - 23) Kadoya Y, Revell PA, al-Saffar N, Kobayashi A, Scott G, Freeman MA : Bone formation and bone resorption in failed total joint arthroplasties : histomorphometric analysis with histochemical and immunohistochemical technique. *J Orthop Res* 14 : 473-482, 1996
 - 24) Athanasou NA, Quinn J : Immunophenotypic differences between osteoclasts and macrophage polykaryons : immunohistological distinction and implications for osteoclast for osteoclast ontogeny and function. *J Clin Pathol* 43 : 997-1003, 1990
 - 25) Holtrop ME, Cox KA, Glowacki J : Cells of the mononuclear phagocytic system resorb implanted bone matrix : a histologic and ultrastructural study. *Calcif Tissue Int* 34 : 488-494, 1982
 - 26) Kawaguchi H, Ogawa T, Shirakawa M, Okamoto H, Akisaka T : Ultrastructural and ultracytochemical characteristics of multinucleated cells after hydroxyapatite implantation into rat periodontal tissue. *J Periodontal Res* 27 : 48-54, 1992
 - 27) Glowacki J, Jasty M, Goldring S : Comparison of multinucleated cells elicited in rats by particulate bone, polyethylene, or polymethylmethacrylate. *J*

- Bone Miner Res 1 : 327-331. 1986
- 28) Kamakura S, Sasano Y, Homma-Ohki H, Nakamura M, Suzuki O, Kagayama M, Motegi K : Multinucleated giant cells recruited by implantation of octacalcium phosphate (OCP) in rat bone marrow share ultrastructural characteristics with osteoclasts. *J Electron Microsc (Tokyo)* 46 : 397-403. 1997
- 29) Takeshita N, Akagi T, Yamasaki M, Ozeki T, Nojima T, Hiramatsu Y, Nagai N : Osteoclastic features of multinucleated giant cells responding to synthetic hydroxyapatite implanted in rat jaw bone. *J Electron Microsc (Tokyo)* 41 : 141-146. 1992
- 30) Campbell P, Ma S, Yeom B, McKellop H, Schmalzried TP, Amstutz HC : Isolation of predominantly submicron-sized UHMWPE wear particles from periprosthetic tissues. *J Biomed Mater Res* 29 : 127-131. 1995
- 31) Kobayashi A, Bonfield W, Kadoya Y, Yamac T, Freeman MA, Scott G, Revell PA : The size and shape of particulate polyethylene wear debris in total joint replacements. *Proc Inst Mech Eng* 211 : 11-15. 1997
- 32) Prescott RJ, Ryan WG, Bisset DL : Histopathological features of failed prosthetic Leeds-Keio anterior cruciate ligaments. *J Clin Pathol* 47 : 375-376. 1994
- 33) Ryan WG and Banks AJ : A failure mechanism of Leeds-Keio ligaments. *Injury* 25 : 443-445. 1994
- 34) Wulling M, Engels C, Jesse N, Werner M, Delling G, Kaiser E : The nature of giant cell tumor of bone. *J Cancer Res Clin Oncol* 127 : 467-474. 2001
- 35) Eisenstein R. Giant-cell tumor of tendon sheath : Its histogenesis as studied in the electron microscope. *J Bone Joint Surg Am* 50 : 476-486. 1968
- 36) Wood GS, Beckstead JH, Medeiros LJ, Kempson RL, Warnke RA : The cells of giant cell tumor of tendon sheath resemble osteoclasts. *Am J Surg Pathol* 12 : 444-452. 1988
- 37) Tashiro H, Iwasaki H, Kikuchi M, Ogata K, Okazaki M : Giant cell tumor of tendon sheath : A single and multiple immunostaining analysis. *Pathol Int* 45 : 147-155. 1995
- 38) Oehler S, Fassbender HG, Neureiter D, Meyer-Scholten C, Kirchner T, Aigner T : Cell populations involved in pigmented villonodular synovitis of the knee. *J Rheumatol* 27 : 463-470. 2000
- 39) Mii Y, Miyauchi Y, Morishita T, Miura S, Honoki K, Aoki M, Tamai S : Osteoclast origin of giant cells in giant cell tumors of bone : ultrastructural and cytochemical study of six cases. *Ultrastruct Pathol* 15 : 623-629. 1991
- 40) Weiss SW, Goldblum JR. Benign tumors and tumor-like lesions of synovial tissue. *Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors*, 4rd ed. Mosby, St Louis, p 1037-1060, 2001
- 41) Kusuzaki K, Takeshita H, Murata H, Hashiguchi S, Nozaki T, Emoto K, Ashihara T, Hirasawa Y : Relationship between binuclear and multinuclear cells in giant cell tumor of bone. *Anticancer Res* 20 : 2463-2467. 2000
- 42) Seki K, Hirose T, Hasegawa T, Hizawa K : Giant cell tumor of tendon sheath. An immunohistochemical observation on the characteristics and the capacity of proliferation of tumor cells. *Zentralbl Pathol* 139 : 287-294. 1993
- 43) Danks L, Sabokbar A, Gundle R, Athanasou NA : Synovial macrophage-osteoclast differentiation in inflammatory arthritis. *Ann Rheum Dis* 61 : 916-921. 2002
- 44) Nakamura H, Ozawa H : Immunohistochemical localization of heparan sulfate proteoglycan in rat tibiae. *J Bone Miner Res* 9 : 1289-1299. 1994
- 45) Ejiri S, Segawa A, Miyauchi C, Abe E, Suda T, Ozawa H : An ultrastructural study on the multinucleation process of mouse alveolar macrophages induced by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3. *J Bone Miner Res* 2 : 547-557. 1987
- 46) Rao AS, Vigorita VJ : Pigmented villonodular synovitis (giant-cell tumor of the tendon sheath and synovial membrane). A review of eighty-one cases. *J Bone Joint Surg Am* 66 : 76-94. 1984
- 47) Kadoya Y, Kobayashi A, Ohashi H : Wear and osteolysis in total joint replacements. *Acta Orthop Scand Suppl* 278 : 1-16. 1998
- 48) Maloney WJ, Smith RL : Periprosthetic osteolysis in total hip arthroplasty : the role of particulate wear debris *JBJS* 77 : 1448-1461. 1995
- 49) Neale SD, Athanasou NA : Cytokine receptor profile of arthroplasty macrophages, foreign body giant cells and mature osteoclasts. *Acta Orthop Scand* 70 : 452-8. 1999
- 50) Chiba J, Rubash HE, Kim KJ, Iwaki Y : The characterization of cytokines in the interface tissue obtained from failed cementless total hip arthroplasty with and without femoral osteolysis. *Clin Orthop* 300 : 304-312. 1994
- 51) Hirashima Y, Ishiguro N, Kondo S, Iwata H : Osteoclast induction from bone marrow cells is due to pro-inflammatory mediators from macrophages exposed to polyethylene particles : A possible mechanism of osteolysis in failed THA. *J Biomed Mater Res* 56 : 177-183. 2001
- 52) Sabokbar A, Fujikawa Y, Neale S, Murray DW, Athanasou NA : Human arthroplasty derived macrophages differentiate into osteoclastic bone resorbing cells. *Ann Rheum Dis* 56 : 414-420. 1997
- 53) Popoff SN, Marks SC Jr : Ultrastructure of the giant cell infiltrate of subcutaneously implanted bone particles in rats and mice. *Am J Anat* 177 : 491-503. 1986
- 54) Wang W, Ferguson DJ, Quinn JM, Simpson AH, Athanasou NA : Osteoclasts are capable of particle phagocytosis and bone resorption. *J Pathol* 182 : 92-

98. 1997
- 55) Anazawa U, Hanaoka H, Morioka H, Morii T, Toyama Y : Ultrastructural cytochemical and ultrastructural morphological differences between human multinucleated giant cells elicited by wear particles from hip prosthesis and artificial ligaments at knee. *Ultrastruct Pathol* 28 : 353-359. 2004
- 56) Kobayashi K, Takahashi N, Jimi E, Udagawa N, Takami M, Kotake S, Nakagawa N, Kinoshita M, Yamaguchi K, Shima N, Yasuda H, Morinaga T, Higashio K, Martin TJ : Tumor necrosis factor alpha stimulates osteoclast differentiation by a mechanism independent of the ODF/RANKL-RANK. *J Exp Med* 17 : 275-286, 2000
- 57) Sabokbar A, Kudo O, Athanasou NA : Two distinct cellular mechanisms of osteoclast formation and bone resorption in periprosthetic osteolysis. *J Orthop Res* 21 : 73-80, 2003
-