

무균성 해리를 보인 인공관절 주위 조직에서 matrix metalloproteinase의 역할

한창동 · 이진우 · 한대용 · 박상욱*

연세대학교 의과대학 정형외과학교실, 생화학-분자생물학교실*

— Abstract —

The Role of Matrix Metalloproteinases in Aseptic Loosening of Total Hip Prostheses

Chang Dong Han, M.D., Jin Woo Lee, M.D.,
Dae Yong Han, M.D., Sahng Wook Park, M.D.*

Department of Orthopaedic Surgery and Department of Biochemistry and Molecular Biology,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea.*

Incidence of aseptic loosening of hip prostheses is increasing in recent years. Previous studies suggested the involvement of proteinases and cytokines in the accelerated bone lysis associated with loosening. To investigate the role of matrix metalloproteinases (MMPs) in the loosening, Gelatin/Type IV collagenases, namely, 72 KDa matrix metalloproteinase (MMP)-2 type and 92 KDa MMP-9 type were analyzed in 14 cases of the loosened endoprostheses of the hip. Zymographic and densitometric analyses revealed production of MMP-2 and elevated induction of MMP-9 in tissue extracts from both the interface between bone and implants and the capsular tissues when compared with those in synovium obtained from a patient with a fractured femoral neck. MMP-9 showed stronger activity than MMP-2. In the sample of a fractured femoral neck, MMP-2 was detected, but MMP-9 was not detected. In matched samples, the activity of MMP-2 and MMP-9 in the interface tissues showed stronger activity than those in the capsular tissues. There was no difference between cemented and uncemented femoral prostheses. The state of prostheses(loosening, osteolysis, and cup wear) did not influence on the activity of MMP-2 and MMP-9. These findings suggest a role for MMP-2 and MMP-9 type gelatinase/Type IV collagenases in the degradation of extracellular matrix

※ 통신저자 : 한 창 동

서울특별시 서대문구 신촌동 134
연세대학교 의과대학 정형외과학교실

* 본 연구는 1997년도 연세대학교 학술연구비로 완성된 논문임.

of periprosthetic tissues, where they may cause weakening of the connective tissue bed and the loosening of total hip replacement endoprostheses. Consequently, we could confirm the role of MMP cascade in aseptic loosening of total hip prostheses. The further study about other types of MMP and the inhibitor of MMP will be needed.

Key Words : Total hip prosthesis, Loosening, Matrix metalloproteinase, Zymogram

서 론

말기 관절염과 무혈성 괴사증 등에서 시행되는 인공고관절 전치환술(total hip arthroplasty)은 관절의 재건을 통해 관절의 기능을 회복시켜 환자의 삶의 질을 향상시키는데 커다란 기여를 하여왔다. 그러나 인공 고관절 전치환술후 발생하는 세균 감염을 동반치 않는 무균성 해리(aseptic loosening)는 인공 고관절 전치환술의 주된 문제로 대두되어 지고 있다. 비구 삽입물의 경우 장기 추시 결과 11-55%에서, 대퇴 삽입물의 경우 15-40%에서 무균성 해리를 보인다고 한다^{9,14,15}. 이러한 인공관절후 발생하는 무균성 해리에는 반복적인 기계적 부하, 미세운동(micromotion), 인공 관절조직에서 유리되는 마모편(methylmethacrylate, polyethylene, titanium powder 등), 금속에 대한 과민 반응 등 여러 가지 요인이 관계되는데 이는 크게 기계적인 기전과 생물학적인 기전으로 분류할 수 있다^{1,2,4,6,8}. 생물학적인 반응에는 여러 가지 면역학적인 기전이 관계되는데, 그 기전은 먼저 인공관절의 마모에 의해 소화되지 않는 조각(indigestible debris)이 형성되며 이는 인공관절 주위 조직으로 방출된다. 방출된 이 조

각들은 이물질 반응(foreign body reaction)을 유발하며, 여러 종류의 사이토카인(cytokine), Prostaglandin-E2(PGE2)와 단백분해 효소(proteolytic enzyme)를 생산하는 세포를 활성화시켜 골 소실을 유발한다고 한다^{3,5,10,11,18}.

위에서 언급한바와 같은 기전에서 형성된 산물 중 골소실에 기여하는 중요한 물질은 IL-1, 교원분해효소(collagenase) 및 PGE2이다. 이중 PGE2는 파골세포의 활성을 증가시켜 골소실을 증가 시킨다고 하며, 섬유아세포와 활액세포에서 분비되는 교원분해효소 즉 단백분해효소(matrix metalloproteinase, MMP)는 여러종류의 효소가 단계적으로 작용(MMP cascade)하여 골소실을 유발한다고 한다. 특히 이들 MMP효소군은 결합조직의 재형성과 인공관절주위의 주된 세포의 기질을 구성하는 교원질을 분해시킬 수 있다고 알려져 있다^{16,17}.

따라서 본 연구의 목적은 인공고관절 전치환술 후 발생한 무균성 해리의 분자생물학적인 기전을 알아보기위하여 인공삽입물 주위 조직에서 MMP의 검출과 분석에 초점을 맞추었으며, 이를 확인하기위하여 인공고관절 재치환술시 인공관절 주위 섬유조직을 채취하여, MMP에 대한 아형(sub-type) 분석을 실시하고 정량화하여 인공관절의

Fig. 1. The results of SDS-PAGE.

무균성 해리를 유발하는 인공관절주위 골소실의 유발기전에 어떠한 효소들이 중요한 역할을 하는지를 파악하고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

1996년 6월부터 1997년 6월까지 연세대학교 의과대학 세브란스 병원에서 무균성 해리로 인하여 인공고관절 재치환술을 시행받았던 14명의 환자에서 채취한 25개의 조직을 대상으로 하였다. 11명의 환자에서는 골과 인공관절 사이의 조직(interface)과 관절막 조직을 쌍(matched sample)으로 채취하였으며, 3명의 환자에서는 관절막만을 채취하였다. 시멘트를 사용하여 인공고관절 전치환술을 시행한 경우가 2례, 시멘트를 사용하지 않고 시행했던 경우가 12례였다. 인공고관절 삽

입물의 상태는 무균성 해리를 보인 경우가 6례, 부분적 골용해를 보인 경우가 2례, 비구컵의 마모가 3례, 골용해와 비구컵 마모를 보인 경우가 2례, 비구삽입물의 해리를 보인 경우가 1례였다. 대조군으로는 대퇴 경부 골절 수술시 채취한 고관절의 활액 조직을 사용하였다.

2. 연구 방법

인공고관절 재치환술시 채취된 조직은 freezing vial에 넣어 영하 70도에서 보관하였다가 분석에 사용하였다.

1) 조직으로부터 단백질의 분리

동결보관된 조직을 각각 0.4 gr씩 채취하여 4배 용량의 단백질 추출완충 용액(extraction buffer solution: 50mM Tris-HCl, 10mM CaCl₂, 2 M KCl, pH 7.5)을 넣은 후 잘게 자른 다음 mixer (OMNI Macro Homogenizer, OMNI Int., CT,

Table 1. List of Total Hip Replacement Revision Patients

Case	Sample No.	Age/Gender	Time to Revision (Months)	Revised Site	Reason of Revision	Type of Prosthesis	Type of Fixation
1	1.12	60/M	96	F	Loosening	HGP I	Cementless
2	2.13	64/M	72	F	Loosening	HGP I	Cementless
3	3.14	56/F	103	F	Osteolysis (1,7)	Osteonics	Cementless
4	4.15	58/F	84	A	Cup Wear/Osteolysis (1)	Anatomic	Cementless
5	5.16	62/M	54	A	Loosening	HGP I	Cementless
6	6.17	24/M	62	F	Loosening	Wagner	Cementless
7	7.18	37/F	60	F	Osteolysis (1,7)	Landos	Cementless
8	8.19	51/M	72	A	Cup Wear/	Anatomic	Cementless
9	9.20	69/F	72	F	Loosening/ Cup Wear	HGP	Cemented
10	10.21	45/F	36	A/F	Loosening/ Cup Wear	Duralock	Cemented
11	11.25	57/F	47	A	Cup Wear	PCA	Cementless
12*	22	64/F	32	A	Acetabular Loosening	Endulon	Cementless
13	23	65/M	58	A	Cup Wear	Anatomic	Cementless
14	24	54/M	54	A	Cup Wear	HGP II	Cementless
		Avg. 54.7	Avg. 64.4				

A: acetabular component, F: femoral component, 12*: radiation necrosis

USA)를 이용하여 균질화하였다¹⁶⁾. 균질화된 조직을 4°C에서 10분간 15,000rpm으로 원심분리를 실시한 후 상층액을 모은 다음 Bradford 방법을 이용하여 Spectrophotometer (Spectra Max, Molecular Devices Corp., CA, USA)로 단백질 정량을 실시하여 동일한 양의 단백질을 분석에 사용하였다.

2) Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

각 조직으로부터 추출한 단백질의 형태를 관찰하기 위하여 SDS-PAGE를 실시하였다. 먼저 동량의 단백질을 7% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel에서 전기영동을 4°C에서 10mA로 3시간 동안 실시하였다. 전기영동 후 gel을 분리하여 세척한 후 염색용액으로 4시간 동안 염색을 실시한 후 분석에 사용하였다.

3) Gelatin zymogram

gelatin을 기질로 하는 효소인 MMP-2와 MMP-9을 분석키 위해 gelatin zymogram을 실시하였다

¹⁶⁾ 먼저 0.1% gelatin (Sigma, St. Louis, MO, USA)을 함유한 8% polyacrylamide gel을 만든 다음 동량의 단백질을 loading하여 4°C에서 10mA로 전기영동을 실시한다. 전기영동 후 gel을 분리하여 세척 용액(50mM Tris-HCl, pH 7.5, 2.5% Tween 80, 0.02% NaN₃)으로 30분간 세척을 실시한 후 renaturation 용액(50mM Tris-HCl, 5mM CaCl₂, 100 mM ZnCl₂, pH 7.5, 0.02% NaN₃)으로 37°C에서 24시간동안 incubation을 실시한다. 이후 1.2 mM Coomassie Brilliant Blue R250 (Sigma, St. Louis, MO, USA)으로 염색을 실시한 다음 탈색용액(10% methanol and 5% acetic acid in distilled water)으로 탈색을 실시한다. MMP-2와 MMP-9의 활성도는 Gel documentation system (Biorad, USA)을 이용하여 online computer 분석 프로그램으로 densitometric analysis를 실시하였다.

양성 대조군(positive control)으로는 시험관내 배양시 배양액내에서 정상적으로 MMP-2와 MMP-9을 발현하는 HT1080 세포주 배양액을

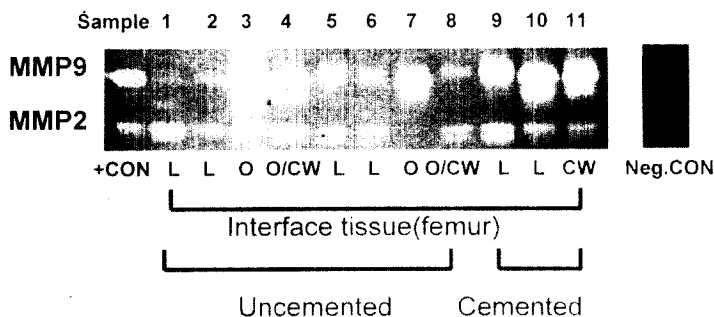


Fig. 2. Gelatin zymography(interface tissues).

L: Loosening, O: Osteolysis, CW: Cup wear

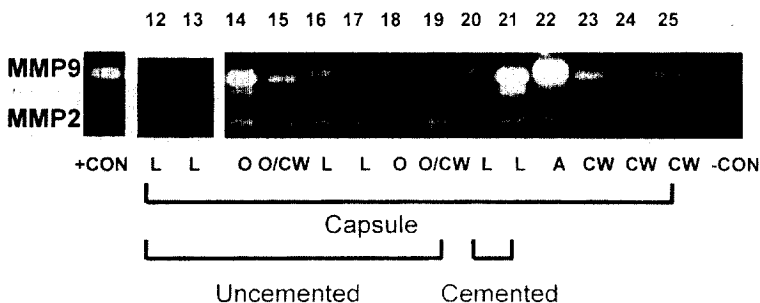


Fig. 3. Gelatin zymography(pseudo-capsule).

L: Loosening, O: Osteolysis, CW: Cup wear, A: Acetabular L.

사용하였으며, 음성 대조군(negative control)로는 대퇴경부 골절 환자의 활액막을 사용하였다.

결 과

단백질을 조직으로부터 분리한후 spectrophotometer를 이용하여 정량하여 동량의 단백질을 SDS-PAGE로 전기영동을 실시한 결과 각 조직간에 일정한 단백질의 pattern은 관찰되지 않았으나, matched sample간에는 동일한 단백질의 양상을 보임을 관찰할 수 있었다. 그러나 zymogram상 관찰되는 MMP-2(72 KDa)와 MMP-9(92 KDa)은 SDS-PAGE상 뚜렷한 band의 형태로는 관찰되지 않았다(Fig. 1). Zymogram상 MMP-2와 MMP-9은 양성 대조군과 비교할 때 뚜렷하게 관찰되었으며, 두 개의 band로 관찰될 경우 이는 활성 형태의 MMP가 관찰되기 때문으로 사료되어 진다(Fig. 2, 3). 양성 대조군의 MMP-9에 대하여 상대 평가를 실시하였으며 그 결과는 그림과 같다(Fig. 4).

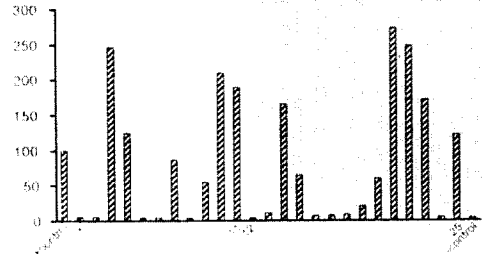
MMP-2와 MMP-9이 골과 인공관절 사이 조직과 관절막에서 검출되었으며, 음성 대조군(대퇴경부 골절군)과 비교하여 볼 때 MMP-9이 MMP-2보다 상대적으로 더욱 강하게 관찰되었다. 대퇴 경부 골절의 활액 조직에서는 MMP-2는 관찰되었으나 MMP-9은 검출되지 않았다. MMP-9의 경우 음성 대조군과 비교하여 볼 때 대부분에서 더 높은 활성을 관찰할 수 있었으며, MMP-2의 경우 음성 대조군과 비교하여 대부분 낮은 활성도를 관찰할 수 있었다. 쌍조직(matched sample)에서 interface의 조직이 관절막 조직보다 더 강한 MMP의 활성을 관찰할 수 있었다. 시멘트를 사용한 군과 시멘트를 사용하지

않은 군사이에는 시멘트를 사용한 군의 개체수가 적어 비교에 유의성을 부여하기 힘들 것으로 사료되거나 유의한 차이는 없는 것으로 관찰되었다. 인공관절 조직의 상태 즉 해리를 보인 경우와 해리없이 골용해 소견만 보인 경우 사이에서도 유의한 차이를 발견할 수 없었다.

고 찰

인공관절 미세편(debris)과 인공관절 주위 골소실과의 관계에 대하여는 많은 연구가 진행되어 인공관절주위에 형성되는 섬유성 조직내의 대식세포(macrophage)와 섬유아세포(fibroblast)가 주

• Densitometric Analysis of Zymogram (MMP-9)



• Densitometric Analysis of Zymogram (MMP-2)

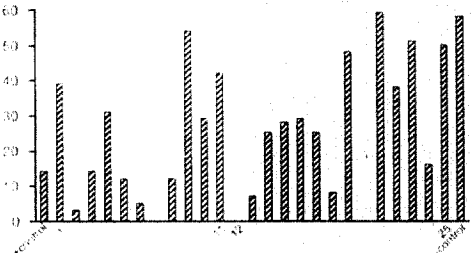


Fig. 4. Densitometric analysis of MMP-2 & MMP-9. The activity was standardized by the amount of MMP-2 in positive control(HT1080 cell line).

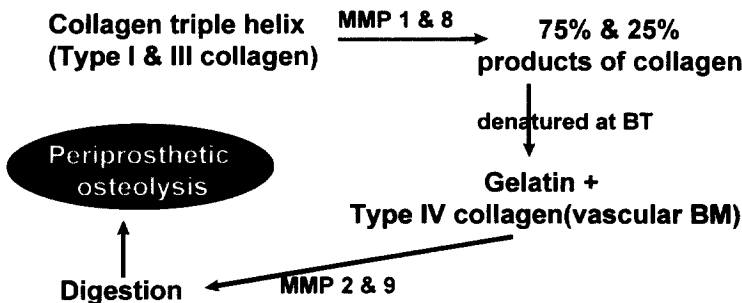


Fig. 5. Diagram of MMP cascade in the loosening around total hip prosthesis.

된 역할을 한다고 알려져 있다. 이에 대한 기전은 다음과 같다^{6,8,10,11,18}. 인공관절의 파편이 대식세포에 의해 포식되면 대식세포는 인터루킨-1 (interleukin-1)과 PDGF(platelet-derived growth factor) 등을 분비하게 된다. 분비된 인터루킨-1(IL-1)은 다른 대식세포를 모이게 하는 강력한 주화성 물질(chemotatic agent)로 작용하며, 섬유아세포를 자극하여 교원질 합성과 골소실을 유발하는 PGE2의 분비를 증가시킨다. 또한 IL-1은 파골세포(osteoclast)의 증식과 다핵세포로의 융합을 증가시켜 골소실을 유발하며, 활액세포(synovial cell)를 활성화시켜 교원질 분해효소(collagenase)와 PGE2를 분비하게 한다. 골아세포(osteoblast)에서는 osteocalcin 합성억제를 통해 신생골 형성을 억제한다. 또한 섬유아세포에 대해 강력한 분열인자(potent mitogen)로 작용하여 섬유아세포와 다른 세포들에서 교원질의 합성을 증가시켜 섬유화를 유발한다고 한다. 대식세포와 섬유아세포에서 분비하는 PDGF는 골아세포와 섬유아세포의 PGE2 생산을 자극하며, 섬유아세포에 작용하여 교원분해효소의 분비를 증가시킨다고 한다. 생체내에서 세포의 기질의 분해(extracellular matrix degradation)는 중성 pH의 세포의 공간에서 발생하게 되는데, 따라서 생리적 pH에서 활성을 보이는 세포의 matrix metalloproteinase(MMP)가 결합조직(connective tissue)의 단계적 분해에 중요한 역할을 할 것으로 추론 할 수 있다. 이들 MMP효소군¹⁾은 하나의 유전자군으로 구성된다고 하며, MMP-1과 다핵형 백혈구 교원분해효소(polymorphonuclear leukocyte collagenase)인 MMP-8은 세포의 기질의 주된 성분인 제 1, 2 및 3형 교원질을 주로 분해한다고 알려져 있다. 이를 증명하기 위하여 많은 연구자들이 해리성 인공삽입물 주위 조직에 대한 연구를 실시하였는데, MMP-1(interstitial collagenase)은 면역조직화학 염색법을 통하여 검출되었지만 MMP-8은 검출되지 않았다고 한다¹⁷. 이는 인공삽입물의 해리에서 MMP-1이 연부조직의 파괴와 재형성에서 initiator로서 중요한 역할을 함을 말해준다. 이후 이 효소들의 작용에 의해 분해된 교원질은 체내 온도에서 gelatin으로 자연변성된다고 한다. 이 gelatin은 ge-

latinase/Type IV collagenase인 MMP-2(72 kDa)와 MMP-9(92 kDa)에 의해 소화되며, 또한 이들 효소는 기저막(basement membrane)의 주된 성분중 하나인 제 4형 교원질도 분해한다고 한다(Fig. 5)¹⁶. Stromelysin으로 알려진 MMP-3는 proteoglycan, 제 3, 4, 7형 교원질, laminin, fibronectin과 gelatin을 분해하며, 다른 MMP효소군을 활성화한다고 알려져 있다. MMP-2는 섬유아세포, 대식세포, 골세포, 연골세포, 내피세포 등에서 생산 분비되지만 다핵핵백혈구에서는 관찰되지 않는다. MMP-9은 호중구, 내피세포, 골세포, 대식세포, 섬유아세포에서 생산 및 분비된다고 한다¹⁷. 이러한 인공고관절 전치환술후 발생하는 무균성 해리에서 이러한 단계적인 matrix metalloproteinase의 작용(MMP cascade)이 중요한 역할을 하는지를 파악하는 것은 추후 인공고관절 전치환술의 주된 실패 원인으로 작용하는 무균성 해리를 예방하고 치료할 수 있는 방법의 제시로 이어질 수 있다.

본 연구의 결과를 통해 1) 인공관절과 골 사이의 조직과 관절막 조직에서 MMP-2와 MMP-9이 검출됨을 알 수 있었으며, 2) 이중 MMP-2는 대조군에서도 검출되었으며, 관절막 조직과 interface 조직에서 대조군보다 현저히 증가된 경우는 없었다. 3) MMP-9은 대조군에서 거의 검출되지 않았으며, interface 조직 및 관절막 조직에서 현저히 증가되어 있음을 알 수 있었다. 4) MMP-9은 관절막 조직 보다 interface 조직에서 현저히 증가되어 있음을 알 수 있었다. 5) 인공삽입물의 고정방법, 상태 및 합금의 종류는 MMP-2와 MMP-9의 생산에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

그러나 본 실험에서 음성 대조군으로 사용된 대퇴경부 골절의 활액막 조직도 역시 정상 활액 조직이 아닌 병적인 조직으로 정상 활액막 조직보다는 MMP의 활성이 더 증가되어있는 상태로 파악될 수 있다. 그러나 이상적인 음성대조군으로 사용될 수 있는 정상 활액막 조직의 채취는 현실적으로 불가능하며 또한 윤리적으로도 문제가 될 수 있어 대퇴 경부 골절의 활액막 조직을 사용할 수 밖에 없었다. 결과에서도 언급한 바와 같이 SDS-PAGE에서는 관찰되지 않았던 72 KDa과 92

KDa 분자량의 밴드가 zymogram상에서는 잘 관찰되는 것으로 미루어보아 zymogram은 MMP-2와 MMP-9의 정량과 활성도의 측정에 매우 민감한 방법이라고 추론할 수 있다. 또한 본 실험의 문제점으로서는 SDS-PAGE 결과에서도 언급하였듯이 일정한 단백질의 밴드 양상이 관찰되지 않고 각 조직마다 상이한 단백질의 양상을 보여 zymogram의 보다 정확한 정량적 분석을 위해 내부 대조군(internal standard)으로 사용될 단백질의 밴드를 정할 수 없어 spectrophotometer로 측정된 양만으로 정량을 실시할 수 밖에 없었다는 점으로 이는 향후 연구에서 해결해야 할 과제라고 사료되어진다. 또한 교원질 분해에 작용되는 여러 효소중 gelatin을 기질로 하는 MMP의 종류는 MMP-2와 MMP-9뿐 아니라 MMP-3(57~KDa), MMP-7(28 KDa), MMP-10(57 KDa)이 있으나 본 실험을 통해서 는 MMP-2와 MMP-9이외에는 검출되지 않았다. 따라서 MMP-2의 증가된 생산과 MMP-9의 유도가 인공 관절 삽입물 주위의 세포의 기질 분해에 중요한 역할을 함을 알 수 있었다. 그러나 gelatin을 기질로하지 않는 MMP-1와 MMP-8은 검출할 수 없다는 단점이 있어, 각 MMP의 항체를 이용하여 보다 정확하게 정량화할 수 있는 방법인 Western blot을 통해 자료를 보완하는 것이 필요할 것으로 사료된다.

interface 조직의 단백분해효소 반응은 직접적으로 인공관절 주위조직의 해리에 영향을 미칠 수 있으나 관절막 조직에서의 MMP 생산 및 분비는 활액조직으로의 유리를 통해 해리에 기여할 수도 있으며, 또한 위관절막의 형성을 위한 결체조직의 재형성에도 기여할 수 있다. 따라서 이러한 MMP 효소의 활성화는 인공삽입물 주위 조직에서 해리에 커다란 영향을 미칠 수 있음을 알 수 있었다.

이러한 교원질 분해에 있어서 MMP cascade에 대한 보다 자세하고 광범위한 연구를 통한 이해는 향후 인공삽입물 해리에 대한 예방으로도 이어질 수 있으며, 이는 이미 화학적으로 tetracyclin이나 doxycyclin을 통해 억제될 수 있음을 여러저자들이 발표하였다^{7,12,13}. 따라서 향후 해리 혹은 골용해 조직으로부터 MMP 억제제의 처리

를 통한 교원질 분해의 억제에 대한 연구도 활발히 진행되어야할 것으로 사료된다.

결 론

무균성 해리를 보인 인공관절주위 조직에서 Zymogram을 통한 matrix metalloproteinase의 분석을 통하여 아래와 같은 결과를 얻을 수 있었다.

- 1) 인공관절과 골 사이의 조직과 관절막 조직에서 MMP-2와 MMP-9이 검출됨을 알 수 있었으며, 2) 이중 MMP-2는 대조군에서도 검출되었으며, 관절막 조직과 interface 조직에서 대조군보다 현저히 증가된 경우는 없었다. 3) MMP-9은 대조군에서 거의 검출되지 않았으며, interface 조직 및 관절막 조직에서 현저히 증가되어 있음을 알 수 있었다. 4) MMP-9은 관절막 조직 보다 interface 조직에서 현저히 증가되어 있음을 알 수 있었다. 5) 인공 삽입물의 고정방법, 상태 및 함유의 종류는 MMP-2와 MMP-9의 생산에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

이상의 결과로 미루어 보아 이러한 MMP 효소의 활성화는 인공삽입물 주위 조직에서 해리에 커다란 영향을 미침을 알 수 있었다.

REFERENCES

- 1) **Birkedal-Hansen H, Moore WGI, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, and DeCarlo A** : Matrix metalloproteinases: A review. *Crit Rev Oral Biol Med*, 4:197-250, 1993.
- 2) **Goldring SR, Jasty M, Roelke MS, Rourke CM, Bringham FR, and Harris WH** : Formation of synovial-like membrane at the bone-cement interface. *Arthritis Rheum*. 29:836-842, 1986.
- 3) **Jiranek WA, Machado M, Jasty M, Jevsevar D, Wolfe HJ, Goldring SR, Goldberg MJ, and Harris WH** : Production of cytokines around loosened cemented acetabular components. *J Bone Joint Surg*, 75(A):6:863-879, 1993.
- 4) **Kim KJ, Rubach H, Wilson SC, D'Antonio JA, and McClain EJ** : A histologic and biomechanical comparison of the interface tissues in cementless and cemented hip prostheses. *Clin Orthop*, 287:142-152, 1993.

- 5) **Kim KJ, Hashimoto J, Morita H, Sato K, and Kashiwazaki S** : Effects of implant particles on the production of IL-1 and IL-6 by bone marrow cells. *Trans Orthop Res Soc*, 17:341, 1992.
- 6) **Kim KJ, Greis P, Wilson SC, D'Antonio JA, McClain EJ, and Rubash HE** : Histological and biochemical comparison of membranes from titanium, cobalt-chrome, and non-polyethylene hip prostheses. *Trans Orthop Res Soc*, 16:191, 1991.
- 7) **Lauhio A, Sorsa T, Lindy O, Suomalainen K, Saari H, Golub LM, and Konttinen YT** : The regulatory role of doxycycline/tetracycline in collagenolytic activity and tissue destruction in joint diseases. *Arthritis Rheum*, 36:1335-1336, 1993.
- 8) **Maloney WJ, Jasty M, Rosenberg A, and Harris WH** : Bone lysis in well fixed cemented femoral components. *J Bone Joint Surg*, 72(B): 966-970, 1990.
- 9) **Salvati EA, Wilson PD Jr, and Jolley MN** : A ten year follow-up study of our first one hundred consecutive Charnley total hip replacements. *J Bone Joint Surg*, 63A:753-767, 1981.
- 10) **Santavirta S, Konittinen YT, Hoikka V, and Eskola A** : Immunopathological response to loose cementless acetabular components. *J Bone Joint Surg*, 73(B):38-42, 1991.
- 11) **Santavirta S, Sorsa T, Konttinen YT, Saari H, Eskola A, and Eisen AZ** : Role of mesenchymal collagenase in the loosening of total hip prosthesis. *Clin Orthop*, 290:206-215, 1993.
- 12) **Sorsa T, Konttinen YT, Lindy O, Suomalainen K, Ingman T, Saari H, Halinen S, Lee HM, Golub LM, and Hall J** : Doxycycline protects serum alpha-1-antitrypsin from human neutrophil collagenase. *Agents Action Suppl*, 39:225-229, 1993
- 13) **Soumalainen K, Sorsa T, Golub LM, Ramamurthy N, Lee HM, Uitto VJ, Saari H, and Konttinen YT** : Specificity of the anticollagenase action of tetracyclines: relevance to their anti-inflammatory potential. *Antimicrob Agents Chemother*, 36(1):227-229, 1992.
- 14) **Stauffer RN** : Ten year follow-up study of total hip replacement with particular reference to roentgenographic loosening of the component. *J Bone Joint Surg*, 64A:983-990, 1982.
- 15) **Sutherland CJ, Wilde AH, Borden LS, and Marks KE** : A ten year follow-up of one hundred consecutive Muller curved stem total hip replacement arthroplasties. *J Bone Joint Surg*, 64A:970-982, 1982.
- 16) **Takagi M, Konttinen YT, Lindy O, Sorsa T, Kurvinen H, Suda A, and Santavirta S** : Gelatinase/Type IV collagenases in the loosening of total hip replacement endoprotheses. *Clin Orthop*, 306:136-144, 1994.
- 17) **Takagi M, Konttinen YT, Santavirta S, Sorsa T, Eisen AZ, Nordsletten L, and Suda A** : Extracellular matrix metalloproteinases around loose total hip prostheses. *Acta Orthop Scand*, 65(3):281-286, 1994.
- 18) **Yokohama Y, Matsumoto T, Hirakawa M, Kuroki Y, Fujimoto N, Imai K, and Okada Y** : Production of matrix metalloproteinases at the bone-implant interface in loose total hip replacements. *Lab Invest*, 73(6):899-911, 1995.