

## チタンイオンが骨芽細胞株 (Saos-2) の生細胞および サイトカイン産生に及ぼす影響 (第4報)

横瀬 勝美 桑田 文幸

### Effects of titanium ion on cell viability, IL-1 $\alpha$ and IL-6 production by the human osteosarcoma cell line, Saos-2

Katsumi Yokose and Fumiyuki Kuwata

#### Abstract

The present study investigated the effects of titanium ion on cell viability and production of interleukin 1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) and interleukin 6 (IL-6) using the human osteosarcoma cell line, Saos-2. Cells were cultured in DMEM supplemented with 10% FBS and antibiotics for 24 h before the addition of 0.1 mM of TiCl<sub>4</sub>. Cell viability was assessed following incubation for 1, 2, 3 or 4 weeks by a colorimetric assay using a LDH cytotoxic test. In addition, the production of IL-1 $\alpha$  and IL-6 by these cells was examined using ELISA. The addition of 0.1 mM titanium ion did not alter cell viability during 1 week, but induced cell did not death after more than 2 weeks. Moreover, the addition of titanium ions had little effect on IL-1 $\alpha$  and IL-6 production in these cells. These results indicate that additions of 0.1 mM titanium ion induces osteosarcoma cell did not death rather than cytokine production.

**Key words** : cell viability, IL-1 $\alpha$  production, IL-6 production, osteosarcoma cell, titanium ion

#### 緒 言

歯科治療において歯が喪失した場合、歯科補綴修復物やインプラント治療により歯を補う。近年インプラント治療が普及し、歯科用金属は生体中に長期間埋入される。このように金属材料と生体は密接に接触するようになり、局所的為害作用に加え全身的为害作用までに至っていると考えられる。金属材料は口腔内で唾液や飲食物などが電解質として作用し、pH変化や各種イオン等による腐食性変化を生じる等、様々な要因が複雑に絡み合い極めて過酷な環境にあると言える。口腔内にはそれ以外にも、歯肉か

ら浸出する体液・食べかすによる電解質の存在・細菌が産出する酸や硫化水素・温度や酸素の濃淡などの変化・咬む力が働く部分の金属に起こる応力腐食や咬耗などがあり<sup>1-7)</sup>、各種の金属がイオンとして溶出要因が共存していると言える。

チタンは歯科用インプラント材料として優れた実績を有しており、有床義歯、架橋義歯や欠損補綴材料としても幅広く使用されているが、そのような環境下で使用されている歯科用金属の中でも特に、生体親和性に優れている金属の一つとしてよく知られている。しかし、そのインプラント材として使用されている金属に

よるアレルギーを訴える患者が近年増え、臨床報告も増加している<sup>2,3)</sup>。

著者らは、先に歯科用金属の金属イオンが口腔軟組織、とくに上皮組織におよぼす影響を説明する第一ステップとして、歯科補綴物の成分であるクロムおよびニッケル、歯科修復物の合金中に存在する亜鉛について、ヒト口腔由来上皮細胞株 (Ca 9-22) の生細胞数および DNA 合成能に及ぼす影響について報告した<sup>8-10)</sup>。また、チタンイオン高濃度、短時間における生細胞への経時変化を調べた<sup>11,12)</sup>。チタンは歯科インプラントに代表されるような金属であり、深部組織内に長期埋植する生体材料である。しかし、チタンの症例報告などから解るように、チタンインプラント装着後数年してアレルギー症状が現れ、その多くが遅延型である。使用されている金属は長期間深部組織内に埋入されることから、本研究はヒト骨肉腫由来の株化骨芽細胞 (Saos-2) を使用し、低濃度のチタンを5日間まで添加し、生細胞数への経時変化およびサイトカイン産生に及ぼす影響について検討を行った<sup>13,14)</sup>。

本研究ではチタンの影響をヒト骨肉腫由来の株化骨芽細胞 (Saos-2 細胞) を使用し、更に長時間添加し生細胞数への経時変化およびインターロイキン-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) およびインターロイキン-6 (IL-6)<sup>15)</sup>の産生に及ぼす影響について検討した。

## 材料および方法

### 1. 細胞培養

実験には骨芽細胞として理化学研究所細胞開発銀行から購入した Saos-2 細胞を使用した<sup>15,16)</sup>。Saos-2 細胞は、Dullbecco's modified Eagle medium (DMEM, 旭テクノグラス) に、10%ウシ胎児血清 (FBS, 旭テクノグラス)、50 U/ml ペニシリンおよび 50  $\mu$ g/ml ストレプトマイシン (Sigma) を加えた培地を用い、37°C、

5%CO<sub>2</sub>の湿潤条件下で培養を行った。

### 2. 細胞障害率 (経時変化)

生細胞へのチタンイオンによる経時変化の影響を調べるために、6穴プレートに Saos-2 細胞  $1 \times 10^4$ 個/cm<sup>2</sup>を播種し、500  $\mu$ l の DMEM (10%FBS および抗生物質を含有) で培養を開始した。Saos-2 細胞播種後、24 時間後にチタンイオン (TrCl<sub>4</sub>) を含む DMEM (10%FBS および抗生物質を含有) に交換した。生細胞へのチタンイオン経時変化の影響を調べるためにその作用時間をそれぞれ 1, 2, 3 および 4 週間として培養を行った。なお、培地中のチタンイオン (TiCl<sub>4</sub>) は終末濃度 0.1 mM になるように添加した。チタンイオンを作用させた後、無血清の DMEM と交換し 24 時間培養後、上清を回収する。回収した上清は 3000 rpm, 5 分遠心し、LDH-Cytotoxic Test (和光純薬) を用い細胞障害率を比色測定した。また、実験は 2 連で行い、結果は平均値で示した。金属イオン経時変化を比較するため、チタンイオン無添加の場合をコントロールとし、DMEM (10%FBS および抗生物質を含有) で 4 週間培養を行った。

### 3. IL-1 $\alpha$ および IL-6 産生

材料および方法の 2. と同様に、6穴プレートに Saos-2 細胞を播種後、24 時間後、チタンイオン (TiCl<sub>4</sub>) の濃度、0.1 mM を含む DMEM に交換し、その作用時間をそれぞれ 1, 2, 3 および 4 週間として培養を行った。その後、無血清の DMEM と交換し、24 時間後それぞれの培養上清を回収後、IL-1 $\alpha$  定量用 ELISA キット (BioSource) および IL-6 定量用 ELISA キット (BioSource) を用いて上清中のサイトカイン量を定量した。コントロールは材料および方法の 2. と同様である。

### 4. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

材料および方法の 2. と同様に、6穴プレートに Saos-2 細胞を播種後、24 時間後、チタン

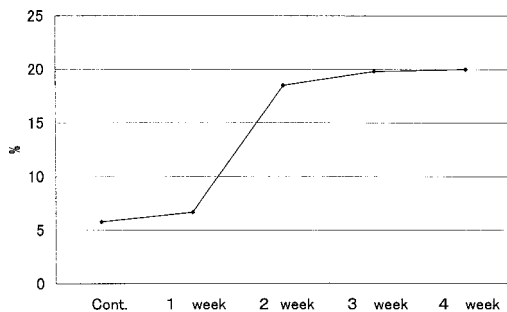
イオン ( $\text{TiCl}_4$ ) の濃度, 0.1 mM を含む DMEM に交換し, その作用時間をそれぞれ 1, 2, 3 および 4 週間として培養を行った。その後, それぞれ新たに無血清の DMEM と交換し, さらに 24 時間培養後, 細胞層を回収し, 全 RNA を抽出した。得られた RNA から, cDNA を作成後, IL-6, IL-6 レセプター (IL-6 R) および内部標準として GAPDH のプライマーを用いて, サーマルサイクラー (PE Applied Biosystems: Gene Amp PCR System) により, DNA の変性を  $94^\circ\text{C}$  30 秒間, アニーリング  $56^\circ\text{C}$  30 秒間, プライマーの伸長を  $72^\circ\text{C}$  30 秒間行い, これを 1 サイクルとし, 30~40 サイクル増幅した。増幅した PCR 産物は, 1.5% アガロースゲルを用いて電気泳動後, エチジウムブロマイドで染色後, 紫外線照射下で写真撮影した。

## 成 績

### 1. 細胞障害率 (経時変化)

Saos-2 細胞にチタンイオン ( $\text{TiCl}_4$ ) 0.1 mM 濃度を添加した影響を第 1 図 (経時変化 (細胞障害率)) に示した。

第 1 図では, チタンイオン ( $\text{TiCl}_4$ ) 濃度 0.1 mM, 作用時間 1, 2, 3 および 4 週間として培養を行った。チタンイオン添加により細胞障害率は, コントロールでは 5.8%, 1 週間では 6.7%, 2 週間では 18.5%, 3 週間では 19.8%,



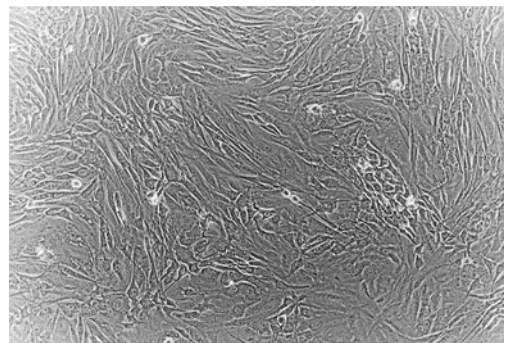
第 1 図 Saos-2 細胞の細胞障害率に及ぼすチタンイオンの影響

4 週間では 20.0% の細胞障害率であった。チタンイオン添加後ではコントロールから徐々に細胞障害率が増加した。各週ごとに細胞状態をコントロールとチタン作用時間 (コントロール, 1 週間~4 週間) を比較し, 細胞状態を図 2~9 に示した。各週のコントロールとチタンイオン添加を比較するとチタンイオン添加していると細胞の増殖がやや劣っている。

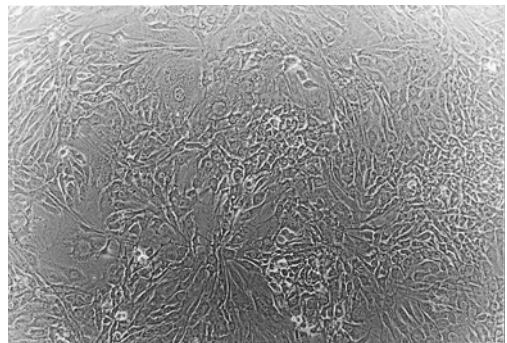
### 2. IL-1 $\alpha$ 産生

コンフルエントに達した後の Saos-2 細胞の IL-1 $\alpha$  産生におよぼすチタンイオン ( $\text{TiCl}_4$ ) 0.1 mM 濃度の経時変化の影響を調べた結果を第 1 表, 第 10 図に示した。

Saos-2 細胞の IL-1 $\alpha$  産生におよぼすチタンイオン ( $\text{TiCl}_4$ ) 濃度の経時変化の影響を調



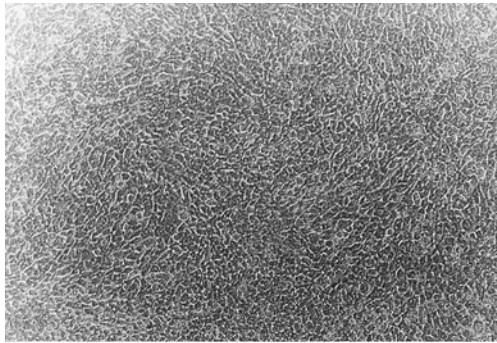
第 2 図 Saos-2 細胞 1 週間後の control 形態



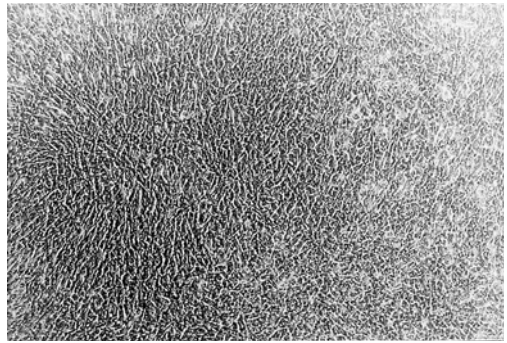
第 3 図 チタンイオン 0.1 mM 1 週間作用させたときの細胞形態

べた結果, IL-1 $\alpha$  産生量はチタンイオン (TiCl<sub>4</sub>) 濃度 0.1 mM コントロールは測定検出限界以下のため測定不可であったが, 1 週間作

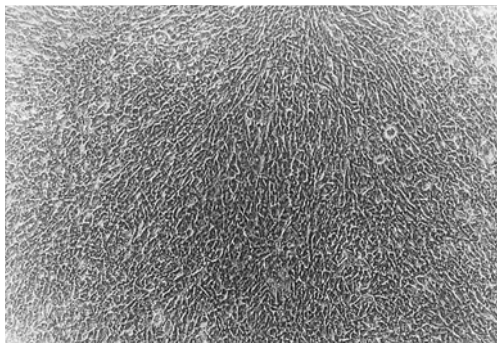
用させ培養した場合は 1.03 pg/ml, 2 週間で 1.58 pg/ml, 3 週間で 3.06 pg/ml, 4 週間で 2.94 pg/ml, になり, 徐々に増加した。



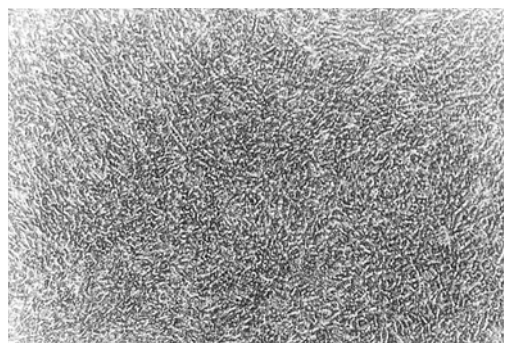
第 4 図 Saos-2 細胞 2 週間後の control 形態



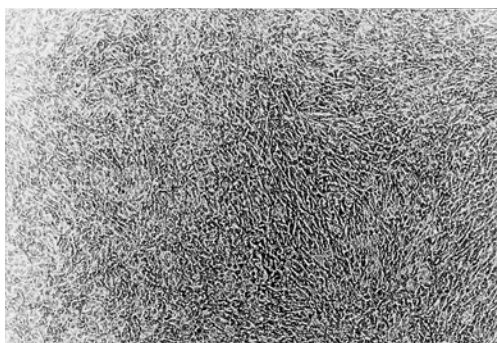
第 7 図 チタンイオン 0.1 mM 3 週間作用させたときの細胞形態



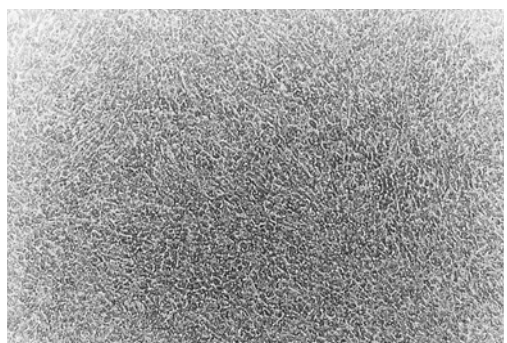
第 5 図 チタンイオン 0.1 mM 2 週間作用させたときの細胞形態



第 8 図 Saos-2 細胞 4 週間後の control 形態



第 6 図 Saos-2 細胞 3 週間後の control 形態



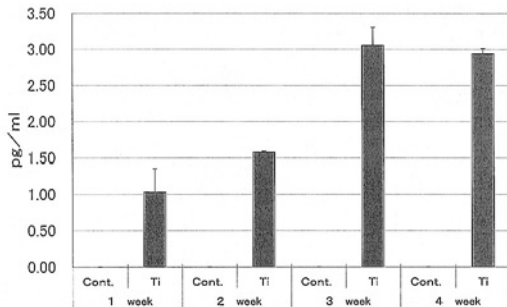
第 9 図 チタンイオン 0.1 mM 4 週間作用させたときの細胞形態

第 1 表 Saos-2 細胞の IL-1 $\alpha$  の産生に及ぼすチタンイオンの影響

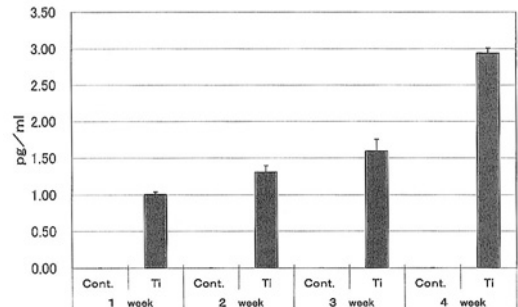
		IL-1 $\alpha$ 量 (pg/ml)		
作用時間		平均値		
1 week	Cont.	<0.80	<0.80	<0.80
	Ti	0.801	1.259	1.03
2 week	Cont.	<0.80	<0.80	0
	Ti	1.564	1.588	1.58
3 week	Cont.	<0.80	<0.80	0
	Ti	3.234	2.88	3.06
4 week	Cont.	<0.80	<0.80	0
	Ti	2.99	2.89	2.94

第 2 表 Saos-2 細胞の IL-6 産生に及ぼすチタンイオンの影響

		IL-6 量 (pg/ml)		
作用時間		平均値		
1 week	Cont.	<0.80	<0.80	0
	Ti	1.031	0.981	1.01
2 week	Cont.	<0.80	<0.80	0
	Ti	1.257	1.37	1.31
3 week	Cont.	<0.80	<0.80	0
	Ti	1.483	1.707	1.60
4 week	Cont.	<0.80	<0.80	0
	Ti	2.99	2.89	2.94



第 10 図 Saos-2 細胞の IL-1 $\alpha$  の産生に及ぼすチタンイオンの影響



第 11 図 Saos-2 細胞の IL-6 産生に及ぼすチタンイオンの影響

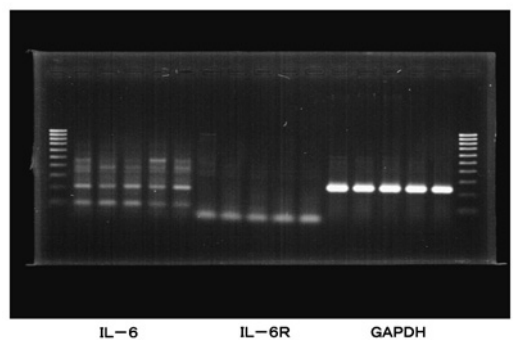
### 3. IL-6 産生

Saos-2 細胞の IL-6 産生におよぼすチタンイオン (TiCl<sub>4</sub>) 濃度の経時的变化の影響を調べた結果を第 2 表, 第 11 図に示した。

Saos-2 細胞の IL-6 産生におよぼすチタンイオン (TiCl<sub>4</sub>) 濃度の経時的变化の影響を調べた結果, IL-6 産生量はチタンイオン (TiCl<sub>4</sub>) 濃度 0.1 mM, 1 週間作用させ培養した場合で 1.01 pg/ml, 2 週間で 1.31 pg/ml, 3 週間で 1.60 pg/ml, 4 週間で 2.94 pg/ml となった。IL-6 産生量は時間と共に徐々に増加がみられた。

### 4. IL-6, IL-6 R の遺伝子発現に及ぼす Ti の影響

Saos-2 細胞にチタンイオン (TiCl<sub>4</sub>) が IL



第 12 図 チタンイオン 0.1 mM 作用させたときの遺伝子発現

-6, IL-6 R の遺伝子発現に及ぼす経時的变化の影響を第 12 図に示した。内部標準として GAPDH を用いた。

チタンイオン添加後は IL-6 の遺伝子発現が見られた。また IL-6 レセプターの遺伝子発現が見られた。

## 考 察

歯科治療には様々な歯科用金属が使用されているが、それらの多くは合金として歯科用修復物、補綴物、矯正用材料等に使われている。本研究で使用したチタンは歯科治療や歯科技工技術の発展にともない歯科用金属として広く使われるようになった。そして歯の硬組織への局所的修復だけでなく、歯科インプラントに代表されるような深部組織内に長期埋植する生体材料として使用されるようになった。歯科においてチタンは歯科用インプラント材として優れた実績を有しているが、近年チタンインプラント材が原因で発症したと思われる金属アレルギーの症例報告があり<sup>20-25)</sup>、生体適合性が優れているチタンでも金属アレルギーを引き起こす患者が増えている。口腔内の様々な要因が総補的に起きている可能性があるが、そのメカニズムの一つとして、金属の一部がイオン化し、これが表皮や粘膜上皮のケラチンなどのタンパクと結合することによって異質のタンパク（抗原）となり、マクロファージなどに取り込まれ、様々な免疫反応が起こり遅延型アレルギーとして発症すると報告されている<sup>21-27)</sup>。このようにチタンは生体親和性に優れているとされてきたが、金属アレルギーの症例報告も多く、チタンが生体内で様々な作用をしていると考えられる。

著者らは、歯科用インプラント材として使用されているチタンについて口腔由来上皮細胞株 (Ca 9-22) を使用しチタンの影響を検討し報告した<sup>11,12)</sup>。本研究ではチタンの影響が遅延型であるという症例報告<sup>19-24)</sup>もあり、歯科インプラントに代表されるような深部組織内に長期埋植する生体材料でもあるため、生細胞数への経時変化およびサイトカイン産生に及ぼす影響をヒ

ト骨肉腫由来の株化骨芽細胞 (Saos-2) を使用し、長期間作用させた検討を行った。

生細胞数に及ぼす影響を生細胞障害率の測定には LDH 測定法を用いた。本測定での LDH-Cytotoxic Test は細胞毒性を簡便に測定できるばかりでなく、細胞が細胞膜に障害を受けて細胞から遊離した LDH (乳酸脱水素酵素) 活性を測定することができ、生理活性物質による細胞障害や細胞性免疫による細胞障害、補体依存性細胞障害、抗体依存性細胞障害の他、細胞の生存率にも利用できることからこの方法を用いた。コントロールは血清培地で 4 週間培養を行い、上清を回収する前の 24 時間を無血清培地と交換し上清を回収し測定を行った。同時に血清培地中で細胞状態を観察した。

細胞障害率は第 1 図に示したように、チタンイオン添加後ではコントロールから徐々に細胞障害率は 4 週間までは増加した。チタン作用時間後の細胞状態をコントロール、1 週間～4 週間ごとの細胞状態 (図 2～9) を示した。各週間のコントロールとチタンイオン添加した状態とを比較観察すると、チタンイオンを添加していると細胞の増殖がやや劣っている。

サイトカイン産生に及ぼす影響をチタンイオンの経時変化にあわせて検討した。インターロイキン-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) は単核球が産生する歯骨細胞刺激因子の主成分であることが明らかにされて以来、IL-1 $\alpha$  の骨代謝・骨疾患との関連が検討されて、最も強力な骨吸収促進因子の一つである。IL-1 $\alpha$  はきわめて低濃度で、ヒト骨髓細胞より歯骨細胞を誘導する作用をもち、更に骨芽細胞を介して間接的に歯骨細胞の活性化を促進する。一方、IL-1 $\alpha$  はヒト骨芽細胞の DNA 合成促進作用を示し、コラーゲン合成に関しては少量で促進、大量で抑制作用を示すため、チタンイオンが Saos-2 細胞の IL-1 $\alpha$  の産生を促進するかどうか調べた。その結果、Saos-2 細胞の IL-1 $\alpha$  産生におよぼすチタン

イオン ( $\text{TiCl}_4$ ) 濃度の経時的変化の影響を調べた結果、IL-1  $\alpha$  産生量は表 1, 第 10 図に示したように、各週コントロールは測定検出限界以下のため測定不可であったが、1 週間以降は徐々に増加した。しかし、産生量は少なく 0.1 mM の低濃度ではチタンの添加により、少量ではあるが IL-1  $\alpha$  産生量があったことを考え併せ、IL-6 産生量の測定を行った。IL-6 は B 細胞刺激因子として純化されたサイトカインであるが、骨芽細胞<sup>29-31)</sup>でも産生され、IL-1  $\alpha$ , TNF, PTH, などによりその産生が促進され間接的に破骨細胞の活性化をも促進するため、チタンイオンが Saos-2 細胞の IL-6 産生を促進するかどうかを調べた。その結果、Saos-2 細胞のチタンイオン ( $\text{TiCl}_4$ ) 添加による、IL-6 産生量は、表 2, 第 11 図に示したように IL-6 産生量は時間と共に徐々に増加がみられた。

Saos-2 細胞の IL-6 産生量はチタンイオン低濃度 (0.1 mM) 添加後、IL-1  $\alpha$  が徐々に増加し、それに対処するように Saos-2 細胞の IL-6 産生量も僅かずつ増加した。

以上のことからチタンイオンによるヒト骨肉腫由来の株化骨芽細胞への影響は、長時間チタンを作用させた場合サイトカイン産生を増加させた。炎症性サイトカインである IL-1  $\alpha$ , IL-6 は破骨細胞性骨吸収の促進作用をもつため、骨吸収サイトカインともよばれていることから、本研究により Saos-2 細胞がチタンイオンにより産生された IL-1  $\alpha$ , IL-6 が破骨細胞に影響を及ぼす可能性が考えられる。

## 謝 辞

本研究の一部は平成 20, 21 年度日本大学歯学部佐藤研究費によって行われたことを付記する。

## 文 献

- 1) Brune D (1986) Metal release from dental biomaterials. *Biomaterials* 7, 163-167
- 2) 井上昌幸, 山中秀夫編著 (1993) 歯科と金属アレルギー. デンタルグイヤモンド社, 東京
- 3) 佐藤温重編 (1997) 歯科材料の副作用と安全性. 学健書院, 東京
- 4) John CW (2000) Biocompatibility of dental casting alloys. *Areview J Prosth Dent* 83 (2), 223-234
- 5) 五島孜郎, 糸川嘉則 (1994) 生体内金属元素. 光生館, 東京, 155-156
- 6) 不破敬一郎 (1982) 生体と重金属. 講談社, 東京, 52-53
- 7) Bridgewater LC, Manning FC, Woo ES, Patierno SR (1994) DNA polymerase arrested by adducted trivalent Chromium. *J Dent Res* 73 (3), 122-133
- 8) 横瀬勝美, 桑田文幸 (2001) 口腔由来細胞株 (Ca 9-22) の生細胞数および DNA 合成能に及ぼす金属イオンの影響. *日大歯紀* 9, 37-44
- 9) 横瀬勝美, 桑田文幸 (2002) 亜鉛イオンが口腔由来上皮細胞株 (Ca 9-22) の生細胞数, DNA 合成能およびサイトカイン産生に及ぼす影響. *日大歯紀* 30, 49-58
- 10) 横瀬勝美, 桑田文幸 (2003) クロムイオンが口腔由来上皮細胞株 (Ca 9-22) の生細胞およびサイトカイン産生に及ぼす影響. *日大歯紀* 31, 9-16
- 11) 横瀬勝美, 桑田文幸 (2004) チタンイオンが口腔由来上皮細胞株 (Ca 9-22) の生細胞およびサイトカイン産生に及ぼす影響. *日大歯紀* 32, 25-34
- 12) 横瀬勝美, 桑田文幸 (2005) チタンイオンが口腔由来上皮細胞株 (Ca 9-22) の生細胞およびサイトカイン産生に及ぼす影響 (第 2 報). *日大歯紀* 33, 19-28
- 13) 横瀬勝美, 桑田文幸 (2006) チタンイオンが骨芽細胞株 (Saos-2) の生細胞およびサイトカイン産生に及ぼす影響. *日大歯紀* 34, 7-14
- 14) 横瀬勝美, 桑田文幸 (2007) チタンイオンが骨芽細胞株 (Saos-2) の生細胞およびサイトカイン産生に及ぼす影響 (第 2 報). *日大歯紀* 35,

- 19-28
- 15) Spyrou P, Papaioannou S, Hampson G, Brandy K, Palmer RM, McDonald F (2002) Cytokine release by osteoblast-like cell cultured on implant discs of varying alloy compositions. *Clin Oral Imp Res* 13, 623-630
  - 16) Fogh J, Wright WC, Loveless JD (1977) Absence of HeLa cell contamination in 169 cell line derived from human tumors. *J Nat Cancer Inst* 58, 209-214
  - 17) Davidovitch Z, Nicolay OF, Ngan PW, Shanfeld JL (1988) Neurotransmitters, cytokines, and the control of alveolar bone remodeling in orthodontics. *Dent Clin North Am* 32, 411-435
  - 18) Lee K.P., Trochimowicz H.L., Reinhardt C.F. (1985) Pulmonary response of rats exposed to titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) by inhalation for two years. *Toxicol Appl Pharmacol* 79, 179
  - 19) Lee K.P., Kelly D.P., Schneider P.W., Trochimowicz H.L. (1986) Inhalation toxicity study on rats exposed to titanium tetrachloride atmospheric hydrolysis products for two years. *Toxicol Appl Pharmacol* 83, 30
  - 20) Ahing-Hsin K, Dominique PP, Martin B, Petre JG (2002), Effect of different Ti-6Al-4V surface treatments on osteoblasts behaviour. *Biomaterials* 23, 1447-1454
  - 21) 今井敏夫, 岩上徳志, 白川正順 (2003) 骨芽細胞の細胞増殖機構に及ぼすチタンの影響について. *Biomed Res Trace Elements* 14, 374-376
  - 22) 井上孝, 秦暢宏, 才藤純一, 下野正基 (2000) インプラントと金属アレルギーの考察. *日本歯科評論*, 101-110
  - 23) 細川隆司, 赤川安正 (2002) チタンインプラントも対する金属アレルギーのリスク. *広歯誌* 34, 1-5
  - 24) 長島義之, 吉永修, 森永博臣, 岡松加恵, 山本勝巳, 森田雅之, 城戸寛史, 松浦正朗 (2004) 他院で埋入後経過不良のためインプラントを撤去した症例の臨床的検討および撤去後の補綴処置について. *日口腔インプラント誌* 17, 31-38
  - 25) Katou F, Andou N, Motegi K, Nagura H (1996) Immuno-inflammatory responses in the tissue adjacent to titanium miniplates used in the treatment of mandibular fractures. *J Cranio-Maxillofac Surg* 24, 155-162
  - 26) Hunt JA, Williams DF (1994) The effect of titanium debris on soft tissue response. *J Mater Sci* 381-383
  - 27) Ungersboek A, Geret V, Pohler O (1995) Tissue reaction to bone plates made of pure titanium—a prospective, quantitative clinical study—. *J Mater Sci* 223-229
  - 28) Torgersen S, Moe G, Jonsson R (1995) Immunocompetent cells adjacent to stainless steel and titanium miniplates and screws. *Eur J Oral Sci* 103, 46-54
  - 29) Sauder DN, Kilian PL, McLane JA, Quick TW, Jakubovic H, Davis SC, Eaglestein WH, Mertz PM (1990) Interleukin-1 enhances epidermal wound healing. *Lymphokine Res* 9, 465-473
  - 30) Kupper TS (1990) The activated keratinocyte a model for inducible cytokine production by non-bone marrow-derived cells in cutaneous inflammatory and immune responses. *J Invest Dermatol* 94, 146s-150s
  - 31) Aida Y, Maeno M, Suzuki N, Nanba A, Motohasi M, Matsumoto M, Makimura M, Matsumura H (2006) The effect of IL-1 $\beta$  on the expression of inflammatory cytokines and their receptors in human chondrocytes. *Life Sci* 79, 764-771