

図2. 組織学的所見 骨頭壊死 (+)

壊死像は修復反応の少ない典型的なものが大部分であった。大腿骨頭血管の光顕観察 (H&E染色)ではNOS inhibitor投与による影響は見出せなかったが大腿骨頭骨端の骨髓腔の脂肪細胞に着目するとcontrol群に比べ、Steroid Hormone+HFC食投与群のmetaphysis骨髓内の脂肪細胞の増加、膨化が著しい傾向があった。

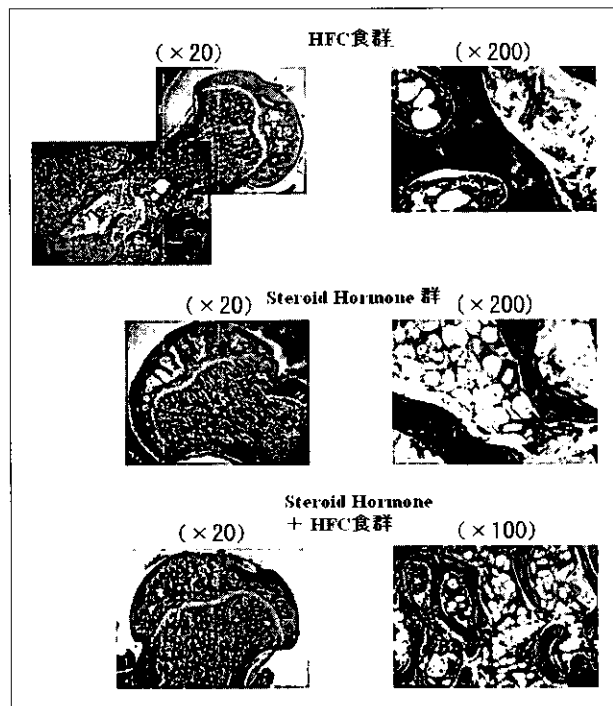


図3. 組織学的所見 骨頭壊死壊死(-)

大腿骨頭骨端の骨髓腔の脂肪細胞に着目するとcontrol群に比べSteroid Hormone投与群とHFC食群とHFC食+Steroid Hormone投与群でepiphysis、metaphysis骨髓内の脂肪細胞の増加、膨化が著しく、骨髓内に脂肪細胞が広く占拠していた。またepiphysisの骨髓内の脂肪細胞に着目すると広く占拠するだけでなく、その脂肪細胞は変性した部もあり壊死への移行を示唆していた。

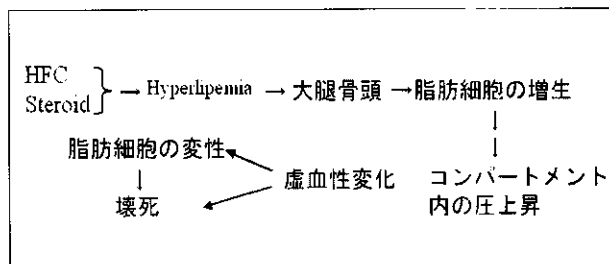


図4. 骨頭内の脂肪細胞の動態と骨壊死の関係

SHRSPの大腿骨頭のある種の特別な血流環境があり、そこにHFC食やSteroid Hormone投与で高脂血症を呈することで脂肪細胞が著しく膨張、増加し骨髓内コンパートメント圧が上昇し、虚血性変化が生じ始め、脂肪細胞の変性、膨化、壊死の状態ひいては骨頭壊死が生じるというR.P. Ficat等の仮説が想定される。

Stage	1	2	3	4	5
壊死	-	-	-	-	+
脂肪細胞	正常	増生 (<50%)	増生 (>50%)	増生、変性	
骨髓細胞	正常	減少 (+)	減少 (++)	減少 (+~++)	壊死

表3. 骨壊死の有無と脂肪細胞の増生、変性に関するStage分類 (epiphysis内)

大腿骨頭epiphysis内の脂肪細胞が増生に注目して正常をStage1、明らかな骨壊死を5とし脂肪細胞の占有面積が50%以下の増加をStage2、占有面積50%以上の増加をStage3、脂肪細胞は膨化し境界不鮮明で滲出物がみられ、変性と解釈できるものを、Stage4と定義した。

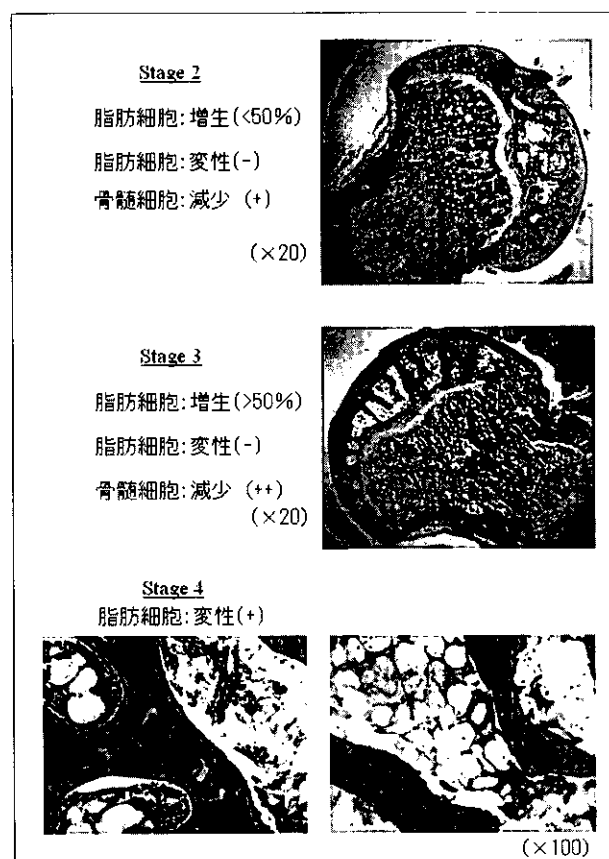


図5. Stage分類2,3,4の具体例

加をStage3、脂肪細胞は膨化し境界不鮮明で滲出物がみられ、変性所見と解釈できるものをStage4と定義したStage分類を考えた(表3、図5)。control群、HFC食群、Steroid Hormone投与群、HFC食+Steroid Hormone投与群で各骨頭のStage分布をKruskal-Wallisで検討すると $p=0.0017$ で有意差がみられた。

D. 考察

大腿骨頭の無腐性壊死のメカニズムとしてその疎血性変化の原因に血液凝固系の異常、血管およびその内皮の異常が最も考えられる。血管内皮に注目してみると内皮が傷害されると血栓をつくり、また血栓が生じれば血管内皮が傷害されるという悪循環が想定される。またNOは血管内皮細胞内のNOSで産生され血管平滑筋に作用し、主に血管拡張作用を有している。故に血流障害の原因として血管内皮およびNOは無腐性壊死のメカニズムのうえで重要である。血圧上昇や血管の剪断力の変化とNOとの関係もいわれている。

そこでNOS inhibitor投与でNO産生を阻害すれば大腿骨頭壊死発生に於ける血管内皮およびNOの関与が強調されるはずである。

一方酸性コレステロールの存在下でNO産生を阻害すれば高脂血症、動脈硬化を呈することも知られている。また家兎にSteroid Hormoneを投与し作成された大腿骨頭壊死モデルに於いて高脂血症はその壊死に関与したという報告がみられる。

今回実験からNOS阻害薬と高コレステロール食をSHRSPに投与すると大腿骨頭壊死の頻度の増加傾向から上記の仮説のある程度の正当性が窺えた。

従来の実験はHFC+SP等量混合飼料投与であり、総コレステロール値やトリグリセライド値の値にばらつきがあり、餌が均一でなく、ラットに餌摂取の学習効果に起因すると考えられ、また長期間投与のためにはL-NNAの含有濃度を現行の1/3から1/4にした均一な飼料の作成が必要であった。今回の実験は飼料の改良で15週齢のSHRSPに4週間以上の投与が可能となった。

大腿骨頭壊死の実験モデルとして使用される動物をMEDLINEで検索するとブタ、犬、ニワトリ、ウサギ、ラットの約70件の文献が渉猟できる。それらの文献の実験方法は、Steroid Hormoneの薬物負荷と外科的に血行遮断に大別される。ラットを使用した実験では血行遮断の報告はみられるがSteroid Hormoneの負荷の報告はない。ラットは純系で実験条件を均

一化しやすく、病因の解析に適するが、高脂血症を呈しにくいこれはSteroid Hormoneの代謝やレセプターなども他の動物に比較して若干異なることに起因しているかもしれない。しかし今回のSteroid Hormone負荷群が対照群に比較して総コレステロール値やトリグリセライド値が漸増であったが、骨頭壊死の発生頻度が総じてHFC食投与群と同様に50%であったことは好結果であろう。今回の結果からSHRSPは他のラットの系にはない大腿骨頭の血管系異常が推定される。しかし体重の減少即ち、異化の亢進は体重200gのラットにメチルプレドニゾロン5mgを1shot投与でも過多と考えられ、更なる減量投与や投与時期 複数少量投与などの検討が必要である。Steroid Hormone負荷が壊死頻度に影響を及ぼす傾向がみられたことは人体の大腿骨頭壊死と類似し興味深い。今回脂肪細胞の増生の解析ではHFC食群、Steroid Hormone投与群、HFC食+Steroid Hormone投与群で骨頭に明らかに増加していた。HFC食群やSteroid Hormone負荷による骨頭脂肪細胞の動態は骨頭壊死の発生機序の原因もしくは助長因子となるかと思われた。さらに画像解析装置を用いて骨頭壊死と脂肪細胞の増多の客観的に組織評価を行う予定である。今回、大腿骨頭壊死実験成績の安定化に努力したがHFC食+Steroid Hormone投与群で60%弱で更なる改良が必要と思われる。Steroid Hormone投与時期、投与量の変更のほかに、薬物負荷に関して、NOS阻害剤を使用しているがそのNOS阻害剤の作用の検証をNOx測定や血管内皮の組織学的検討をおこない結果によってはNOS阻害剤の変更検討が必要となろう。他の種のラットへHFC食+Steroid Hormone負荷投与実験も必要で現在遂行中である。またわれわれの究極の目的はSHRSPを用いた大腿骨頭壊死の病態解析であり、その前段階の安定した高頻度の壊死発生という当面の研究目的の達成が見込まれそうなので予防改善の研究も並行して行ないたい。

E. 結論

1. SHRSP/NagasakiにNOS阻害剤含有高コレステロール飼料とSteroid Hormoneを投与し、大腿骨頭壊死の動態を観察した。
2. HFC食群では総コレステロール値とLDL値が著高したのに対し、Steroid Hormone投与では総コレステロール値の上昇は軽度であったがHDL値、トリグリセライド値は上昇していた。

3. 壊死発生頻度はcontrol群に比べ、HFC食群、Steroid Hormone投与群、Steroid Hormone+HFC食投与群で高い傾向がみられた。
4. control群に比べSteroid HormoneやHFC食投与でepiphysisやmetaphysis骨髄内の脂肪細胞の増加、膨化が著しく骨髄内に脂肪細胞が広く占拠していた。
5. Steroid Hormone投与群とHFC食群のepiphysisでは骨髄内に脂肪細胞が広く占拠し、その脂肪細胞は変性した部もあり骨壊死への移行を示唆していた。

F. 研究発表

学会発表

第22回国際整形外科基礎学会 (SIROT Société Internationale de Reserch Orthopédique et de Traumatologie)

(2002年8月23～30日米国カルフォルニア州サンディエゴ市)

第38回SHR学会

(平成14年10月24日(木)、25日(金)和歌山市)

第17回日本整形外科学会基礎学術集会

(平成14年11日(金)・12日(土)青森県青森市)

特発性大腿骨頭壊死症発生における脂肪細胞の役割に関する研究 第2報；ヒト骨髄内脂肪細胞培養と形態学的研究

重松 正森、北島 将、佛淵 孝夫
(佐賀医科大学整形外科)

特発性大腿骨頭壊死症（以下ION）の発生機序については、様々な説が唱えられており、近年は脂質代謝や脂肪細胞の関与も注目されている。前回、我々はIONにおける骨髄内脂肪細胞の役割を解明すべく、手始めに変形性股関節症（以下OA）症例を対象とした培養実験について報告した。今回は更に症例を重ね、走査型電子顕微鏡を用いた形態学的研究も開始したので報告する。OA症例群では前回の報告と同様に高齢群の方が接着・増殖率は高い傾向にあった。また、高濃度DXA投与では接着増殖能は急激に低下することより、ステロイドによるION発生の可能性として、1) 接着増殖能の急激な亢進、2) 高濃度による著しい細胞障害、の2点が考えられた。ION群自体は症例数がまだ少ないため傾向を見出すには至らなかった。走査型電子顕微鏡を用いた研究も開始したが、ステロイド投与の際、どのような形態学的変化を呈するのかなど、詳細な観察に適していると考えられる。

A. 研究目的

特発性大腿骨頭壊死症（以下ION）の発生機序については、様々な説が唱えられており、近年は脂質代謝や脂肪細胞の関与も注目されている。前回、我々はIONにおける骨髄内脂肪細胞の役割を解明すべく、手始めに変形性股関節症（以下OA）症例を対象とした培養実験について報告した。今回は更に症例を重ね、走査型電子顕微鏡を用いた形態学的研究も開始したので報告する。

B. 研究方法

<対象>

当院でTHAを施行したOA157例、ON1例、ION6例より骨髄内脂肪組織を得てこれを使用した（図1）。

<対象>			
	男	女	計
OA	20	137	157
外傷性 ON	1	0	1
ION	4	2	6

図1

1) OA群

- ・平成13年7月より平成14年7月までに当院にて施行されたTHA症例
- ・男性20例、女性137例
- ・平均年齢は男性64.4歳、女性58.9歳

2) ION群

- ・平成13年7月より平成14年6月までに当院にて施行されたTHA症例
- ・男性4例、女性2例
- ・平均年齢は男性51.8歳、女性42歳

<実験方法>

前回の報告と同じく、天井培養法を用いた。ION群についてはデキサメタゾン（以下DXA）を各濃度3セット作成して観察した。

C. 結果

1. 形態学的変化

以下のような形態学的変化が認められた。

- 1) 接着した脂肪組織周囲にfibroblast-like cell が出現
- 2) fibroblast-like cellが増加（図2）
- 3) confluentになった後、分化段階へ移行（図3）

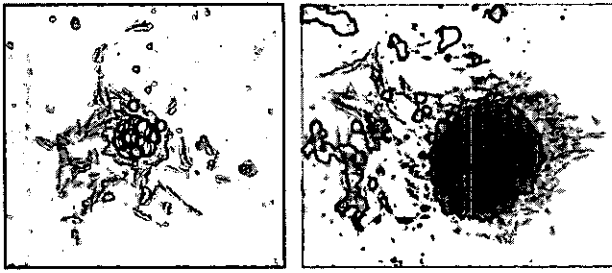


図2. 培養5日目

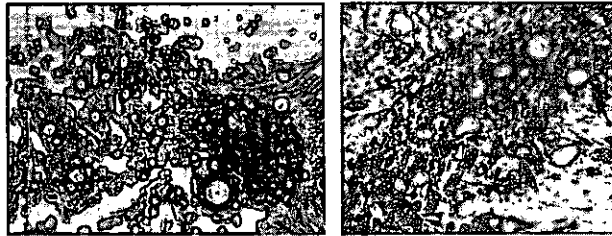


図3. 培養20日目

2. OA症例における年齢層別にみた接着増殖率

70歳以上より得た検体の方が接着増殖率は高い傾向にあった(図4)。

これをDXA濃度別にみると、70歳以上群では変化がないが、59歳以下群ではDXA投与により亢進する

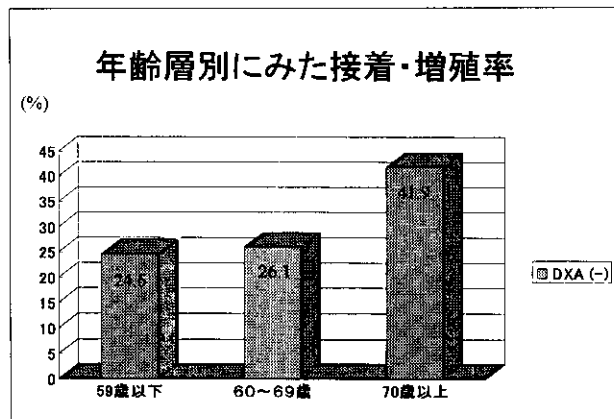


図4

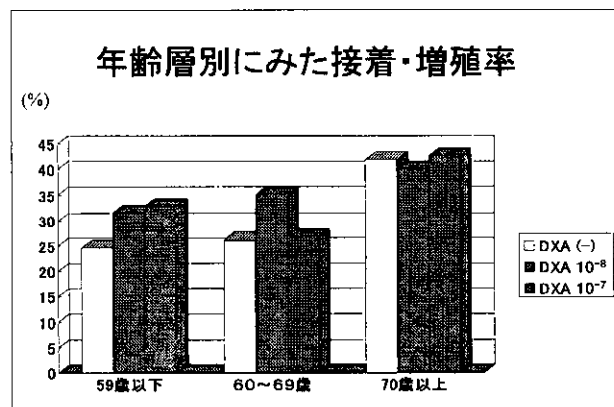


図5

傾向にあった(図5)。

さらに高濃度のDXAを投与すると、接着増殖率は急激に低下した(図6)。

IONに多い59歳以下群だけみたグラフが図7である(図7)。10⁻⁷ Mでは接着増殖率は亢進しているが、これ以上の濃度では急激に低下している。

3. ION症例における年齢層別にみた接着増殖率

ION群をDXA濃度別にみると、70歳以上群では変化がないが、10⁻⁷ Mでは接着増殖率は亢進しているが、これ以上の濃度では急激に低下している(図8)。こ

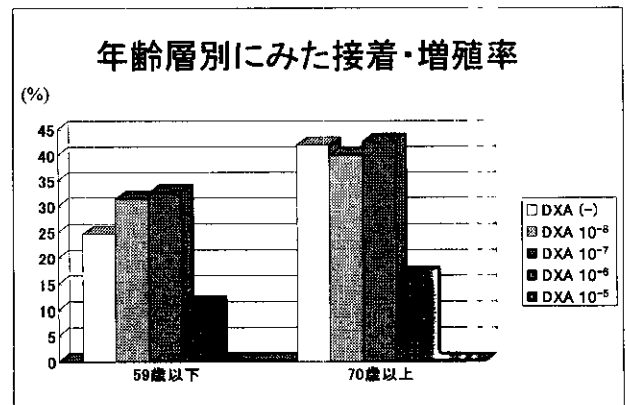


図6

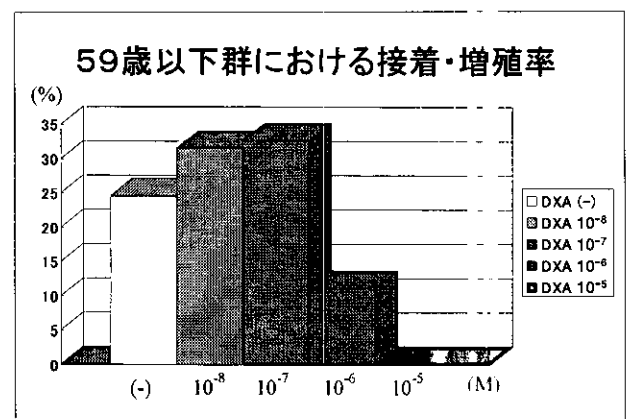


図7

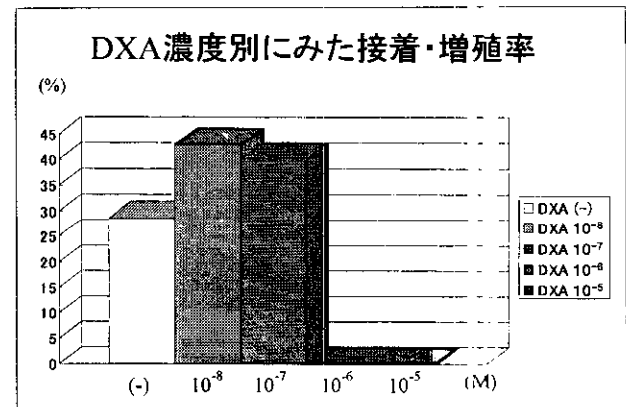


図8

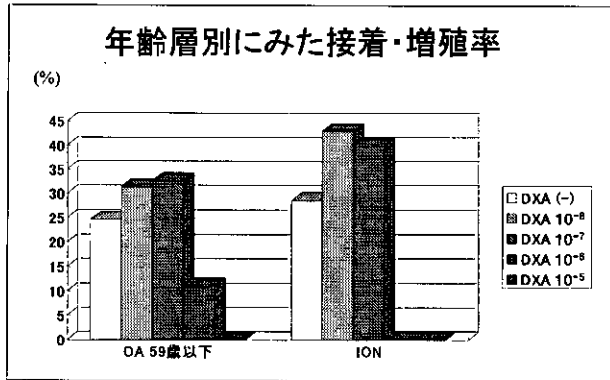
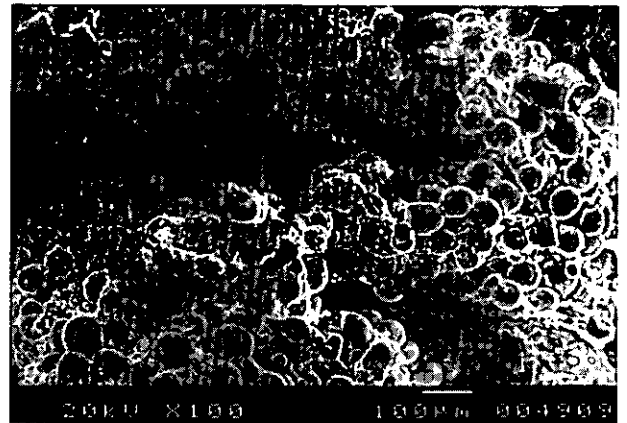


図9



ION症例 (頸部)

図13

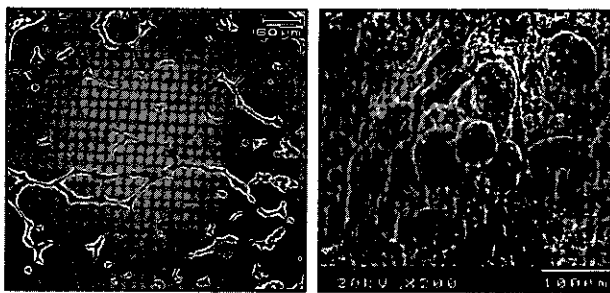
これは59歳以下のOA群のグラフと同様の傾向であった(図9)。

4. 走査型電子顕微鏡による形態

今回から走査型電子顕微鏡を用いた研究を開始した(図10、11、12、13)。今後、より詳細な形態学的研究が可能となると考えられた。

5. 骨髄内脂肪細胞径(図14)

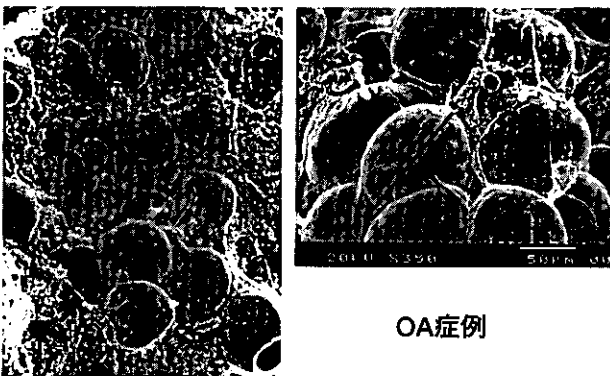
OA4例、ION3例の平均最大径を計測した。測定した症例が少ないため、傾向を見出すにはいたらなかった。



光顕

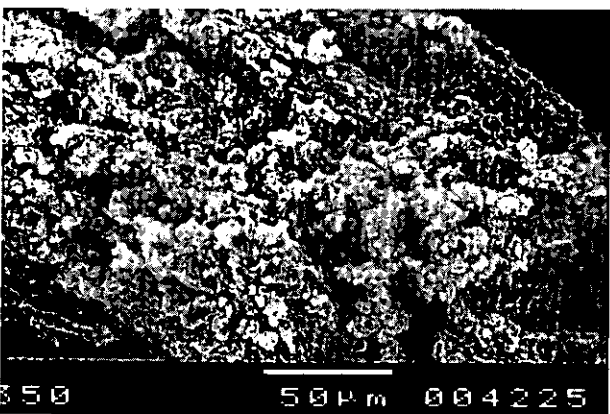
電顕

図10



OA症例

図11



ION症例 (壊死部)

図12

<平均最大径の比較>

OA

ION

年齢(歳)	性別	平均最大径(μm)
54	女	81.1
33	女	89.0
44	女	73.0
45	女	79.5

年齢(歳)	性別	平均最大径(μm)
74	男	97.0
39	男	83.5
62	女	55.7

図14

D. 考察

OA症例群では前回の報告と同様に高齢群の方が接着・増殖率は高い傾向にあった。また、DXA投与では接着増殖能は急激に低下することより、OA群、ION群ともにDXA濃度は10⁻⁸~10⁻⁷Mが培養に適していると考えられた。ステロイドによるION発生の可能性として、1) 接着増殖能の急激な亢進、2) 高濃

度による著しい細胞障害、の2点が考えられた。ION群自体は症例数がまだ少ないため傾向を見出すには至らなかった。走査型電子顕微鏡を用いた研究も開始したが、ステロイド投与の際、どのような形態学的変化を呈するのかなど、詳細な観察に適していると考えられる。

E. 結論

1. 平成13年7月から平成14年7月まで当院にてTHAを施行したOAおよびION症例の骨髄内脂肪細胞を培養した。
2. OA症例群では前回の報告と同様に高齢群の方が接着・増殖率は高い傾向にあった。
3. ステロイドによるION発生の可能性として、1) 接着増殖能の急激な亢進、2) 高濃度による著しい細胞障害、の2点が考えられた。
4. IONは症例数がまだ少ないため傾向を見出すには至らなかった。
5. 走査型電子顕微鏡を用いた研究も開始したので経過を報告した。

F. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) 北島将、重松正森、肥後知子、佛淵孝夫、ヒト骨髄内脂肪細胞培養の試み—ステロイド濃度変化に対する接着増殖率—、整形外科と災害外科 51suppl2: 82
 - 2) Masamori Shigematsu, Hideo Watanabe, Hajime Sugihara. Proliferation and Differentiation of Unilocular Fat Cells in the bone marrow; Cell Structure and Function, Vol 24, No2, pp89-100, 1999
2. 学会発表
 - 1) 重松正森、OA症例におけるヒト骨髄内脂肪細胞培養の試み、第29回日本股関節学会、平成14年9月13日
 - 2) 重松正森、OA症例におけるヒト骨髄内脂肪細胞培養の試み、第17回日本整形外科学会基礎学術集会、平成14年10月11・12日
 - 3) 肥後知子、重松正森、小峯光徳、佛淵孝夫、ヒト骨髄内脂肪細胞培養の試み、第104回西日本整形・災害外科学会、平成14年6月14日

ステロイド誘発性大腿骨頭壊死症モデル家兎へのサイクロオキシゲナーゼ阻害薬投与の影響:骨髄内抵抗血管のアラキドン酸による拡張反応に対する作用

大橋 俊夫、水野 理介 (信州大学医学部第一生理)
堀内 博志 (信州大学医学部整形外科)

我々は、ステロイド誘発性大腿骨頭壊死症モデル家兎から採取した骨髄内抵抗血管が、アラキドン酸-サイクロオキシゲナーゼ (COX) カスケードを介して拡張反応を誘起してくることを報告してきた。今回は、メチルプレドニゾロン (MPSL) 投与家兎にCOX阻害薬を前投与ならびに同時投与することによって、同家兎骨髄内抵抗血管のアラキドン酸誘発性拡張反応が抑制されるかを検討した。その結果、COX阻害薬のMPSL投与家兎への投与は、同家兎から摘出した骨髄内抵抗血管のアラキドン酸誘発性拡張反応を有意に減弱することが判明した。

A. 研究目的

生体各組織の局所血流量は、各組織に分布する抵抗血管である細動脈の収縮や拡張によって直接的に調節されていることが知られている。しかしながら骨内微小循環を規定する骨髄内を走行する細動脈ならびに抵抗血管の機能的構築は、全く明らかにされていない。平成11年の本学会において、我々は、骨髄内から摘出したヒト、家兎ならびにラット抵抗血管の生理・薬理的機能構築を解明できる実験系を確立し、興味ある新知見を得てきた¹⁾。その後我々は、MPSL投与家兎における摘出骨髄内抵抗血管の解析を行い、MPSL投与は、家兎骨髄内抵抗血管にアラキドン酸による拡張反応を誘起し、この拡張反応はインドメタシン (非選択的COX阻害薬) およびNS-398 (選択的COX2阻害薬) によって抑制されることを明らかにした。今回は、MPSL投与家兎にインドメタシンおよびNS-398の前投与と同時投与を行うことによって、MPSL投与家兎摘出骨髄内抵抗血管のアラキドン酸誘発性拡張反応が抑制されるかを検討した。

B. 研究方法

実験には日本白色家兎 (雄、体重~3.0kg) を用い、家兎を対照群 [MPSL (-)]、MPSL単独投与群 [MPSL (+)]、MPSLとインドメタシン投与群 [MPSL (+)+INDO] ならびにMPSLとNS-398投与群 [MPSL (+)

+NS-398] に設定した。MPSL、INDOならびにNS-398の家兎への投与間隔・量を (図1) に示す。摘出骨髄内抵抗血管作製方法とその解析方法は、平成11年学会報告書に準じた¹⁾。ノルエピネフリン (10⁻⁶M) によって前収縮を負荷した標本に対して、アラキドン酸 (AA, 10⁻⁸~10⁻⁵M)、イソカルバサイクリン (ICC, 10⁻⁸~10⁻⁵M)、アセチルコリン (ACh, 10⁻⁸~10⁻⁵M) およびSNAP (10⁻⁸~10⁻⁵M) を標本外腔側から投与し標本の反応性を検討し、それらの拡張反応量を各群間において比較検討した。

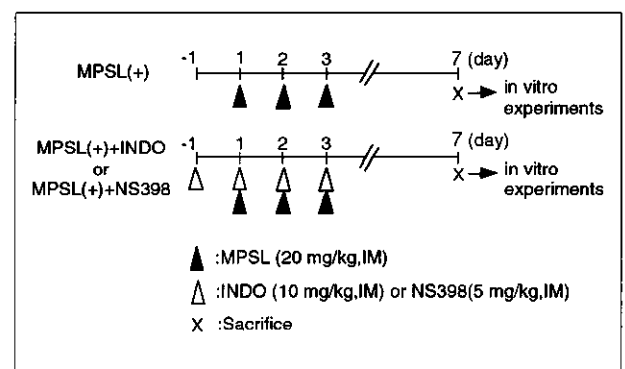


図 1

MPSL、INDOならびにNS-398の家兎への投与間隔・量。MPSL (▲、20mg/kg) は連続3日間筋肉内投与し、INDO (△、10mg/kg) およびNS-398 (△、5mg/kg) はMPSL投与1日前から連続4日間筋肉内投与した。1回目のMPSL投与から7日後に各群から骨髄内抵抗血管を摘出しin vitroの実験を行った。

C. 研究結果

アラキドン酸は、ノルエピネフリンにて前収縮を負荷したMPSL (+) 群の骨髄内抵抗血管に対して用量依存的な拡張反応を誘起したが、MPSL (-) 群の抵抗血管には拡張反応を誘起しなかった。アラキドン酸は、MPSL (+) +INDO群ならびにMPSL (+) +NS-398群の抵抗血管に対しても拡張反応を誘起したが、その拡張反応量はMPSL(+群)に比べて有意に小さかった。(表1)に各群における 10^{-5} Mアラキドン酸によって得られた抵抗血管の拡張量を示す。

一方、イソカルバサイクリン、アセチルコリンならびにSNAPはノルエピネフリンにて前収縮を負荷した各群の骨髄内抵抗血管において用量依存的な拡張反応を誘起し、その反応量は各群において有意な差はみられなかった(表1)。

D. 考察

今回の実験によって次の事が判明した。①MPSL投与家兎へのインドメタシンおよびNS-398の投与は、同家兎から摘出した骨髄内抵抗血管のアラキドン酸による血管拡張反応を有意に減弱した。②MPSL投与家兎へのインドメタシンおよびNS-398の投与は、同家兎から摘出した骨髄内抵抗血管のイソカルバサイクリン、アセチルコリンならびにSNAPによる血管拡張反応に影響を与えなかった。

我々は、MPSL投与家兎から摘出した骨髄内抵抗血管は、アラキドン酸によって拡張反応を誘起し、この拡張反応は同家兎から摘出した標本へのインドメタシンおよびNS-398処理によって完全に抑制されることを報告してきた。今回の実験によって、MPSL投与家兎へインドメタシンおよびNS-398を投与するこ

とによっても、MPSL投与家兎から摘出した骨髄内抵抗血管のアラキドン酸による拡張反応は有意に減弱することが判明した。従って、本実験はMPSL投与家兎生体内におけるCOX阻害作用が同家兎から摘出した抵抗血管におけるアラキドン酸誘発性拡張反応抑制においても有効であることを示唆する。しかし、MPSL投与家兎の生体内におけるCOX阻害効果は、同家兎から摘出した標本への処置におけるCOX阻害効果に比べて弱いことが判明した。この抑制効果の差は今回実験に用いたインドメタシンおよびNS-398の投与量・間隔が不十分であった可能性が考えられ、今後より効果的な投与方法の探索が必要である。

我々はMPSL投与家兎骨髄内抵抗血管においてアラキドン酸-COX-拡張性プロスタグランジン産生系亢進による骨髄内微小循環環境変化と浮腫形成を中心とした病態生理学的意義において次のような作業仮説を建てた。すなわち、ステロイド投与によって骨髄内抵抗血管においてCOXの誘導あるいは活性亢進が起る。アラキドン酸-COX-拡張性プロスタグランジンによって骨髄内抵抗血管の拡張がおこり骨髄内に充血性の血流増加が誘起される。骨髄内の毛細血管床は、外部を骨組織という低コンプライアンス構造物でおおわれている、従って、僅かな血管透過性の亢進は容易に骨組織の浮腫を生ずる。さらにこの組織間隙の圧上昇は、経壁圧の影響を直接受ける骨髄内に分布する細静脈やリンパ管の狭窄・圧平を引き起こし浮腫を亢進し増悪させる。骨髄内の浮腫は、組織間隙における物質交換の拡散距離を延長し、骨細胞への栄養・酸素供給障害、老廃物除去障害を引き起こし、骨髄内の微小循環環境の恒常性維持の破

	MPSL(-)	MPSL(+)	MPSL(+)+INDO	MPSL(+)+NS-398
n	5	5	5	5
10^{-5} M AA (%)	0.0 ± 0.0	79.5 ± 8.8*	30.3 ± 11.8*†	25.0 ± 2.9*†
10^{-5} M ICC (%)	95.4 ± 2.7	89.2 ± 5.8 ^{NS}	88.1 ± 6.4 ^{NS}	83.3 ± 12.1 ^{NS}
10^{-5} M ACh (%)	63.6 ± 31.6	81.7 ± 9.3 ^{NS}	96.8 ± 1.5 ^{NS}	96.4 ± 12.9 ^{NS}
10^{-5} M SNAP (%)	40.0 ± 8.5	65.1 ± 10.4 ^{NS}	29.6 ± 10.1 ^{NS}	31.2 ± 17.9 ^{NS}

表 1

MPSL(-)、MPSL(+)、MPSL(+)+INDOならびにMPSL(+)+NS-398各群におけるアラキドン酸(AA、 10^{-5} M)、イソカルバサイクリン(ICC、 10^{-5} M)、アセチルコリン(ACh、 10^{-5} M)とSNAP(10^{-5} M)の抵抗血管拡張反応量。*: $p < 0.05$ from vs MPSL(-)、†: $p < 0.05$ from MPSL(+), NS: not significant from MPSL(-)

綻を起こすことが想定される。従って、今回得られたMPSL投与家兎へのCOX阻害薬の前投与ならびに同時投与は、ステロイドによって浮腫に起因する骨髓内微小循環異常の軽減に効果的であることが示唆される。今後、in vivo状態で直接骨髓内の微小循環動態の観察が可能な実験系を構築し、MPSL投与家兎骨髓内の微小血管系における血流制御ならびに血管透過性を定量的に評価することが必要である。

E. 結論

COX阻害薬のMPSL投与家兎への投与は、同家兎から摘出した骨髓内抵抗血管のアラキドン酸誘発性拡張反応を有意に減弱することが判明した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 堀内博志、水野理介、小林千益、斎藤直人、高岡邦夫、大橋俊夫：摘出ウサギ骨髓内抵抗血管の脈管作動物質の反応性とそれに対するグルココルチコイドの影響、脈管学、40：729, 2000.
- Horiuchi, H., Mizuno, R., Takaoka, K., Ohhashi, T. Glucocorticoids facilitates cyclooxygenase-dependent vasoconstrictor responses in isolated resistant arteries of rabbit bone marrow. Jpn. J. Physiol., 51:S146, 2001.

2. 学会発表

- 堀内博志、水野理介、高岡邦夫、大橋俊夫：摘出家兎骨髓内抵抗血管の機能特性に対するグルココルチコイドの影響、第78回日本生理学会大会、平成13年3月（京都）
- 水野理介、堀内博志、高岡邦夫、大橋俊夫：家兎骨頭壊死症モデル動物における骨髓内抵抗血管のサイクロオキシゲナーゼ（COX）依存性拡張反応の変調、第31回日本心脈管作動物質学会、平成14年2月（東京）
- 堀内博志、水野理介、斎藤直人、小林千益、高岡邦夫、大橋俊夫：摘出家兎骨髓内抵抗血管の機能特性に対するグルココルチコイドの影響、第17回日本整形外科学会基礎学術集会、平成14年10月（青森）

G. 参考文献

- 水野理介ほか：摘出骨細動脈標本の薬物反応評価実験装置の試作と応用.厚生省特定疾患対策研究事業 骨・関節系調査研究班 特発性大腿骨頭壊死調査研究分科会、平成11年度研究報告書 1999

異型狭心症(vasospastic angina) に合併した特発性大腿骨頭壊死症の2例

堀内 博志、小林 千益、斎藤 直人、脇谷 滋之
縄田 昌司、太田 浩史 (信州大学医学部整形外科)
高岡 邦夫 (大阪市立大学大学院整形外科)

30歳代男性で異型狭心症を合併した狭義の特発性大腿骨頭壊死症 (IONF) を2例経験した。そのうち1例は、両股関節を含む多関節に骨壊死を認めた。全身性 (骨髄内) の血管運動性の変化 (攣縮、弛緩反応の低下など) が骨壊死発生の原因のひとつとなり得るのではないかと考えた。

A. 症例

〈症例1〉38歳、男性、主訴は右股関節痛である。既往歴に異型狭心症 (34歳) がありカルシウム拮抗剤の内服加療を受けている。ステロイド歴はなく、アルコールは多くてビール (350ml) 1~2本/日である。高脂血症や凝固・線溶系異常はない。異型狭心症についてであるが1998年 (34歳) 自動車運転中胸痛、背部痛が出現し他医受診した。発作時にECG上II III aVfにST上昇が認められた。入院後安静時、夜間にも同様なECG変化を認め、異型狭心症と診断された。以後内服加療中であるが、現在でも時々安静時の胸部絞扼感を自覚している。また、初回発作以前にも同様な症状は10年以上前からあったとのことである。現病歴であるが1991年誘因なく左股関節痛が出現し他医受診後当科紹介受診した。左特発性大腿骨頭壊死症と診断し、骨頭回転骨切施行した。術後経過良好で、1996年以降未受診であった。しかし、2001年ころから右股関節痛出現し次第に歩行困難となり、2本松葉杖で2002年5月当科再診した。単純X線画像上右大腿骨頭の圧潰を認めた。Type C2, stage IIIのIONFと診断した。さらに、骨シンチグラムや単純X線およびMRI画像診断により、両膝、両肩、左肘、左足関節にも骨壊死を認めた。現在、右股関節痛に為、杖歩行しており、右股関節の関節可動域も制限されている。他関節では両膝特に左膝関節痛を訴えているが、日常生活には支障はない。骨壊死を発生している関節を含めて、その他の関節痛は訴えていない。右股関節に対しては人工股関節置換術を施行する予定である。

〈症例2〉34歳、男性、主訴は右股関節痛である。既往歴は脳出血 (26歳)、異型狭心症 (31歳) があり、カルシウム拮抗剤の内服をしている。また、高脂血症があり内服治療している。ステロイド使用歴およびアルコール多飲歴はない。異型狭心症については、2000年夏 (31歳) ごろから、胸部絞扼感が頻回に出現し、胸痛も伴った。2000年9月から他医内科で、精査・加療を開始し同年10月心臓カテーテル検査を施行されたが冠動脈には有意な狭窄は確認されなかった。臨床症状および病歴から、異型狭心症との診断を受け以後内服加療をうけている。2001年5月 (32歳) から誘因なく右股関節痛出現した。他医受診後、2001年12月当科初診した。初診時、歩行時の軽い股関節痛を自覚するのみであり、日常生活動作には支障なかった。股関節の関節可動域はほぼ正常であった。単純X線上下右大腿骨頭に带状硬化像があり、MRIでもT1強調画像でband patternがみられtype C2, stage IIのIONFと診断した。現在、自覚症状および画像所見において増悪はなく経過観察している。

B. 考察

今回我々は30歳代の男性でステロイド使用歴およびアルコール愛飲歴ともない2例の狭義の特発性大腿骨頭壊死症に、異型狭心症(vasospastic angina, VSA) を合併した症例を経験した。そのうち1例では狭義の特発性大腿骨頭壊死症では稀とされる多発骨壊死を認めた。この症例では、高脂血症や凝固・線溶系異常はなく明らかな骨壊死の危険因子は見出しえなかった。これまでVSAとIONFの合併の報告はなく、

VSAがTONF発生の危険因子とはいえない。しかし、明らかな確証はないものの今回の症例（特に多発骨壊死を生じた症例¹⁾）においては、「冠動脈に生じた血管攣縮が骨髄内血管でも生じ骨壊死が発生した。」との仮説が成り立つのではないかと推察した。

VSAは古典的には「労作時胸痛がなく、夜間に心電図上ST上昇を示し15分以上続く一過性胸痛発作」とされている。心臓カテーテル検査においても冠動脈に有意な狭窄はなく、種々の刺激（寒冷、過換気など）により冠攣縮が誘発される。治療はカルシウム拮抗薬が有効とされている。近年、臨床例や動物モデルを用いた解析により冠攣縮の発生機序が報告されている。ひとつには攣縮を発生する冠動脈の血管内皮細胞の機能低下、特にNOの活性低下が見出されている¹⁾。また、冠攣縮血管ではrho/rho-kinase系の発現増加があり、その結果ミオシン脱リン酸化酵素の働きが抑制されてミオシン軽鎖のリン酸化量が著しく増加するため、過剰収縮が発生することが報告されている²⁾。さらにrho選択的阻害剤が冠攣縮の発生を著明に抑制することも報告されている³⁾。それでは、VSA症例ではこの様な血管攣縮が冠動脈以外でも発生するののかとの疑問が生じる。VSA症例の全身の末梢血管における血管内皮細胞機能や血管平滑筋機能を検討した報告は少ないが、VSA症例では上腕動脈や前腕の抵抗血管で内皮依存性の血管拡張反応が低下しているとの報告がある⁴⁾⁵⁾。しかしながら、骨髄内血管についての報告は全くない。血管攣縮などの血管運動性の変化が骨壊死発生の原因になり得るかという仮説に加え、グルココルチコイド過剰により骨髄内血管は血管攣縮や弛緩反応の変化などが生じやすい環境になるのかという点も検討する必要があると考える。グルココルチコイド投与中の症例では前腕の内皮依存性血管弛緩反応が低下しているという赤池らが報告した知見は興味深い⁶⁾。現時点では、これら血管運動性の変化（攣縮、弛緩反応低下など）が骨壊死の原因となっているとの確証は得られていないが、我々は今後、内皮細胞機能や血管平滑筋機能を対象とした骨壊死発生の病態解析を進めていく予定である。

C. 参考文献

1) Kugiyama K, Ohgushi M, Motoyama T, et al: Nitric oxide-mediated flow-dependent dilation is impaired in coronary arteries in patients with coronary spastic an-

gina. *J Am Coll Cardiol.* 1997 30:920-6.

- 2) Kandabayashi T, Shimokawa H, Miyata K, et al: Inhibition of myosin phosphatase by upregulated rho-kinase plays a key role for coronary artery spasm in a porcine model with interleukin-1beta. *Circulation.* 2000 101:1319-23.
- 3) Masumoto A, Mohri M, Shimokawa H, et al: Suppression of coronary artery spasm by the Rho-kinase inhibitor fasudil in patients with vasospastic angina. *Circulation.* 2002 105:1545-7.
- 4) Moriyama Y, Tsunoda R, Harada M, et al: Nitric oxide-mediated vasodilatation is decreased in forearm resistance vessels in patients with coronary spastic angina. *Jpn Circ J.* 2001 65:81-6.
- 5) Motoyama T, Kawano H, Kugiyama K, et al: Flow-mediated, endothelium-dependent dilatation of the brachial arteries is impaired in patients with coronary spastic angina. *Am Heart J.* 1997 133:263-7.
- 6) 赤池雅史、井内貴彦、三ツ井貴夫ほか：グルココルチコイド過剰による活性酸素の産生亢進と血管内皮機能障害 特発性大腿骨頭壊死症調査研究分科会平成11～13年度総合研究報告書：78-83.

血管内皮傷害における可溶性プロテインC受容体

長澤 浩平、小荒田秀一 (佐賀医科大学内科)
常吉 直子、福留 健司 (佐賀医科大学病態予防医学)

血管内皮上に存在するプロテインC受容体 (PCR) は、内皮の傷害により一部が可溶性 (sPCR) となって血清中に遊離すると考えられている。今回は大腿骨頭壊死症 (IONF) の発症に血管内皮傷害が関与している可能性を考え、各種病態における血清sPCR値を測定した。その結果、活動性の血管炎症候群、及びSLE患者の一部でsPCR値の上昇が見られ、興味あることにステロイド大量投与でさらに上昇する例も認められた。IONF発症に関連するかが今後の問題である。

A. はじめに

特発性大腿骨頭壊死症 (IONF) はステロイド治療にともなって起こる重要な合併症の一つであるが、発症過程に血管傷害の関与が示唆される。全身性エリテマトーデス (SLE) において、IONFが発症することが多いが、疾患自体の特性とパルス療法を初めとしたステロイド大量投与による血管内皮細胞傷害が背景にあることが示唆されている。

血管内皮細胞上に存在するプロテインC受容体 (EPCR) は、血管内皮の傷害により一部が可溶性 EPCR (sEPCR) となり、血清中に遊離すると考えられる。血管内皮の傷害が関連している可能性がある各種膠原病とそれに伴って発症したIONFの患者において、可溶性EPCRの測定を行った。特にSLEにおけるステロイドの大量使用による可溶性EPCRの変動の検討はIONF発生の機序を考える上で重要である。

B. 可溶性プロテインC受容体研究の背景

プロテインCは、アンチトロンビンⅢと並び、凝固系において重要な制御メカニズムの一つである (図1)。血管内皮細胞上に発現するプロテインC受容体は、CD1/MHCクラスIスーパーファミリーの一員であるが、トロンボモジュリンと共同し、プロテインCを活性化型プロテアーゼとし、凝固因子であるVaやIXaを分解・不活化することで、抗凝固作用を発揮する。

EPCRは、主として大血管において強い発現が認められるが、最近の研究では、微細な血管においても発現していると報告されている。プロテインC経路は、

大血管から微小血管まで、広範囲の血管で凝固制御を行っていると考えられる。

血管内皮細胞上に存在するEPCRは、血管内皮の傷害により一部が可溶性EPCRとなって血清中に遊離すると考えられる (図2)。この可溶性EPCRの測定により、血

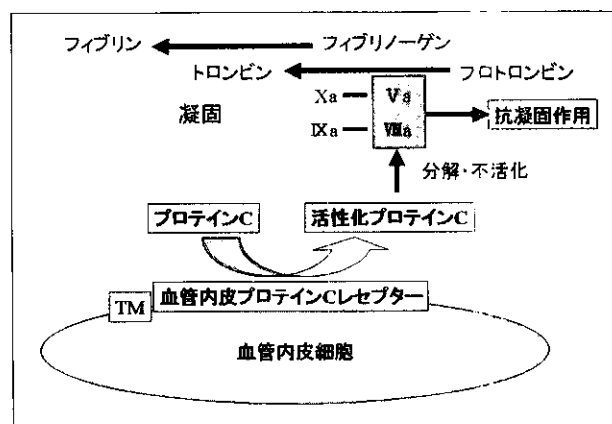


図1. EPCRと凝固系の関係

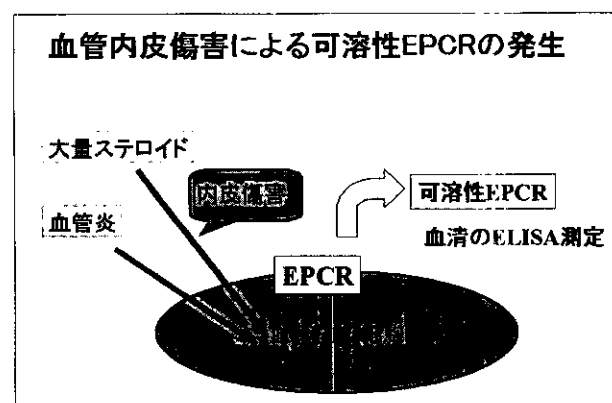


図2. 血管内皮傷害によるsEPCRの推定される発生機序

管内皮の傷害を検出することができると考えられる。

今までの報告では、膜型のEPCRは各種血管の内皮細胞上に発現しているとされる。臨床的には、乳癌、神経膠芽腫、白血病などの癌組織での発現の増強がある¹⁾。また、可溶性のsEPCRは、Wegener肉芽腫症のような血管炎での増加が報告されているが²⁾、一部の症例にかぎられている。正常者や動脈閉塞性疾患における抗凝固剤の投与によるsEPCR濃度の低下があることも報告されている。しかし、現在までのところWegener肉芽腫症以外の膠原病やIONFにおける報告は認めない。

C. 患者と方法

表1に示すように、ベーチェット病11例、血管炎症候群18例、SLE42例およびIONFを起こしたSLE18例、SLEと抗リン脂質抗体症候群合併17例、関節リウマチをはじめとしたその他の膠原病34例の合計140例でのsEPCRの検討を行った。

一部の症例に関しては、プロスペクティブに経時的にステロイド大量投与の前、7日後、28日後のsEPCR濃度を測定し、3ヶ月後に、MRIによる骨頭壊死の有無の検討を行った。

sEPCRは、-80℃に保存された患者血清を、抗EPCR抗体を用いたELISA法にて解析した。正常上限である6ng/ml以上の場合陽性と判断した。

患者背景	
疾患	n
Behcet病	11
血管炎症候群	18
SLE 活動期	21
寛解期	21
SLE + IONF	18
SLE + 抗リン脂質抗体症候群	17
関節リウマチ	4
その他	30
計	140

表1. 患者背景

D. 結果

〈血管炎・膠原病におけるsEPCR〉

正常者ではsEPCRの陽性例はほとんど認めない。しかし、ベーチェット病や血管炎の患者の一部では、sEPCRが陽性となる患者が存在した。ベーチェット病では11例中1例、血管炎では18例中4例で、陽性率は22%であった。1例はWegener肉芽腫症、2例は顕微鏡的多発血管炎、1例は高安動脈炎であった。血管炎の活動期には、高値を示す傾向がみられた。

SLEにおいては、42例中、高値を示す症例が16例、陽性率38%で、血管炎よりも高頻度であった。SLEにおける血管内皮傷害が介在していることを反映していると考えられた。関節リウマチをはじめとした強皮症、多発性筋炎など他の膠原病では、陽性例はほとんど認められなかった。

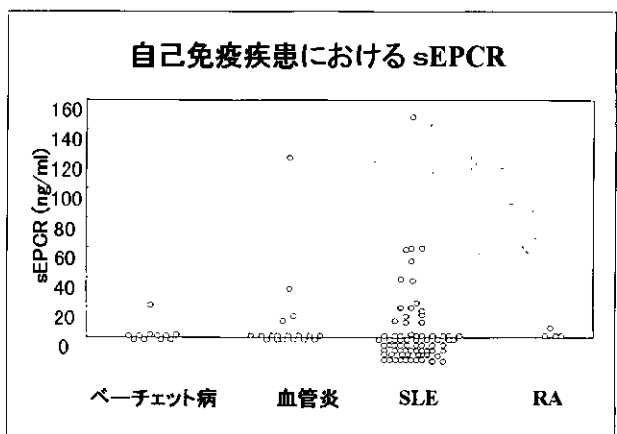


図3. 自己免疫疾患におけるsEPCR

〈SLEにおけるsEPCR〉

SLEでは高率にsEPCRの陽性化が認められたため、活動性との関係を検討した。

SLEの疾患活動期には、57%にsEPCRの増加を認め、疾患非活動期の症例では陽性率は13%と低かった。このことから、SLE疾患活動期には、血管内皮の傷害が併存していることが考えられる。一方、非活動期には、ほとんどの症例でsEPCRは正常化しており、内皮傷害は改善すると考えられる。

SLEの抗リン脂質抗体症候群合併群では、疾患非活動性の症例も含めて、31%と高い陽性率を認め、疾患非活動期であっても何らかの内皮傷害が継続している可能性が考えられた。

しかし、SLEでIONFを発症した群の患者18例では、IONF発症後では長時間を経過しているためもあり、sEPCRの増加を認めなかった。

〈SLEにおけるステロイド治療によるsEPCRの変動〉

SLE患者において大量ステロイド投与による治療を行った2症例に関して、sEPCRの変動を測定した。投与前、投与7日目、投与1ヶ月後の時点でそれぞれ測定を行った(図4)。

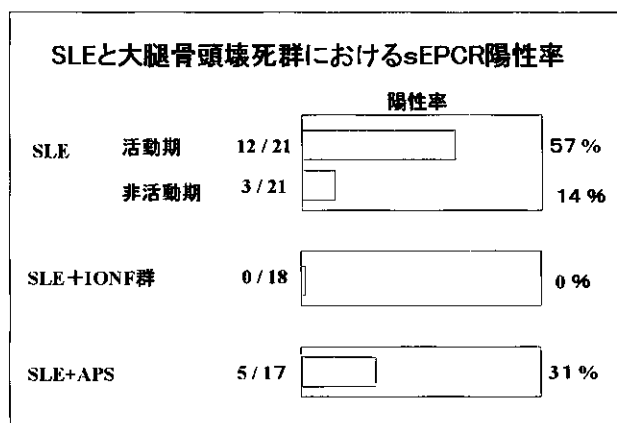


図4. SLEとIONFにおけるsEPCR陽性率

E. 症例

〈症例1〉

AK 33歳、女性。

2001年検診で尿潜血を指摘、02年蛋白尿、下腿浮腫が出現した。近医にて抗核抗体陽性を指摘され、紹介受診。リンパ球減少(750/ μ l)、抗核抗体陽性(160倍)、抗DNA抗体71IU/ml、尿蛋白陽性よりSLEと診断された。C3 54mg/dl、C4 1mg/dl、CH50 6と低下していた。腎生検では、WHO分類にてV型であった。甲状腺機能の低下もあり、甲状腺生検にて橋本病の合併の診断を得た。プレドニゾロン50mgにて治療を開始し、寛解を認め、ステロイド減量と寛解維持を目的に、ミゾリピンの併用を行った。IONF予防のため、ワーファリンおよびシンバスタチンの併用を行った。3ヶ月後のMRIによる評価ではIONFの所見を認めなかった。

症例1では、ステロイド治療により、速やかに、sEPCRの低下が見られ、以後正常化した。

〈症例2〉

YA 19歳、男性。

2002年5月、発熱、顔面・手背の紅斑出現し近医受診したが、診断不明のまま経過観察中であったが、8月40℃に達する発熱があり、当科入院となる。蝶形紅斑、円盤状皮疹、日光過敏、汎血球減少(白血球数2800/ μ l)、抗核抗体80倍、抗DNA抗体陽性(119IU/ml)、

抗Sm抗体陽性にて、SLEと診断した。プレドニゾロン40mgより治療を開始し、寛解を得た。IONFに対する予防薬投与を行い、ステロイド治療開始後3ヶ月後の股関節MRIでの骨頭壊死所見は認めなかった。

症例2では、ステロイド治療により、sEPCRの増加が一過性に見られたのちに、その増加が1ヶ月にわたり遷延した。

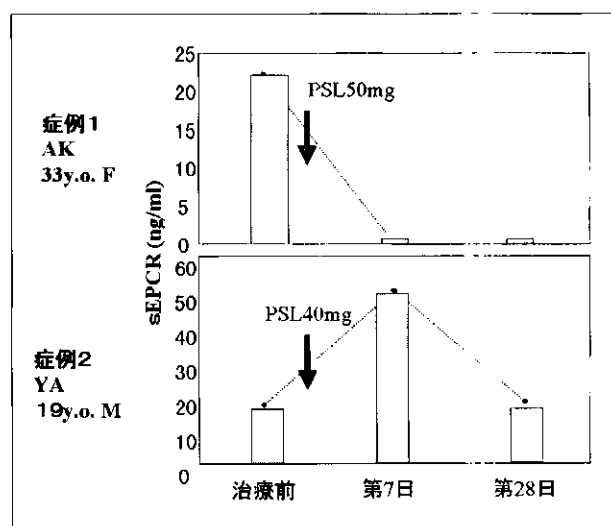


図5. SLE患者のステロイド治療によるsEPCRの推移

上記のように同じSLE患者であっても、大量ステロイド投与によるsEPCRの変動は異なるパターンをとることが示唆された。ステロイドに対する感受性の個人差などや内皮傷害の差を反映している可能性が考えられる。今後、sEPCRの変動とIONFの関連をプロスペクティブに検討する必要があると考えられた。

F. 考察とまとめ

EPCRは、大血管から微小な血管まで血管内皮細胞に発現している凝固線溶を制御する重要な因子である。EPCRは、臨床的には、悪性腫瘍の組織での発現を認めており、悪性疾患での凝固異常にも関与する可能性が指摘されている¹⁾。また、Wegener肉芽腫症でsEPCRの増加があるとの報告があり、血管炎でのsEPCRの増加は内皮細胞傷害を反映している可能性が示唆されている²⁾。しかし、現在のところ、SLEやIONFでのsEPCRの報告はまだなされておらず、IONF、特に、SLEにおけるIONFの発症の機序に内皮細胞傷害が関与している点が指摘されている点からその解析は重要であると考えられる。

血管炎の一部(22%)では、血管内皮の傷害を反映してsEPCRが血清中で増加していた。血管炎は血管内皮細胞傷害が背景に存在しており、sEPCRの増

加は血管炎の活動性と相関すると考えられる。

SLEでは、血管炎よりも高い頻度でsEPCRの陽性者が認められ、疾患活動期にはsEPCRの陽性率が増加（57%）した。疾患非活動期にsEPCRは減少した。他の膠原病疾患では陽性率は低かった。このことから、SLE自体が、血管内皮細胞の傷害を背景に有することが推定された。

さらにSLEでは、ステロイド大量療法によりsEPCRが増加する症例と低下する症例があることが示唆された。一部の症例では、大量ステロイド投与により、さらに血管内皮の傷害が起こる場合があると考えられる。このような症例にIONFが発生する可能性がある。

SLEにおけるIONF発症群での壊死発生後のsEPCRは正常であった。むしろ、壊死発生以前の大量ステロイド療法を行った早期の段階でのsEPCR変動が重要である可能性がある。IONFの発生にSLE自体による内皮傷害と大量ステロイド療法による内皮傷害の両者による内皮傷害が凝固系に関連してIONFの発生に関与する可能性があり、ステロイド大量投与によって、内皮傷害が起こらない群との個人差が存在する可能性が考えられる。今後、症例を積み重ね検討を行う必要がある。

G. 参考文献

- 1) Tsuneyoshi N, Fukudome K, Horiguchi S, Ye X, Matsuzaki M, Toi M, Suzuki K, Kimoto M. Expression and anticoagulant function of the endothelial cell protein C receptor (EPCR) in cancer cell lines. *Thromb Haemost* 85:356-61, 2001
- 2) Boomsma MM, Stearns-Kurosawa DJ, Stegeman CA, Raschi E, Meroni PL, Kurosawa S, Cohen Tervaert JW. Plasma levels of soluble endothelial cell protein C receptor in patients with Wegener's granulomatosis. *Clin Exp Immunol.* 128:187-94, 2001

大腿骨頭壊死症におけるbone marrow edemaの血管造影所見

柘原 俊久、渥美 敬、平沼 泰成
戸嶋 潤、玉置 聡、朝倉 靖博
(昭和大学藤が丘病院整形外科)

今回の検討では、我々が以前から行ってきた大腿骨頭選択的動脈造影施行例の中でMRIにてbone marrow edema patternを呈した症例の血管造影所見を提示し検討を加えた。動脈相では起始部より4本以上に細かく分枝するSRA、細かい分枝を有するIRA、およびSRA-IRA間の吻合枝の存在が明瞭に造影された。また、頸部から転子間にかけてPCA由来の細動脈の分枝が造影された。静脈相では同部に造影剤の鬱滞が観察された。本症においてbone marrow edema patternが認められる部分では、血管造影所見上、動脈系・静脈系双方の変化が観察された。

A. 研究目的

近年、特発性大腿骨頭壊死症（以下、IONと略す。）と骨髄浮腫の関連が検討されており、IONに見られるbone marrow edemaは大腿骨頭の機械的破壊に伴う二次性変化であると考えられている。今回の検討では、我々が以前から行ってきた大腿骨頭選択的動脈造影施行例の中でMRIにてbone marrow edema patternを呈した症例の動脈造影所見を提示し検討を加える。

B. 研究方法

デジタル画像診断装置を用いて大腿骨頭栄養動脈の選択的動脈造影を施行した特発性大腿骨頭壊死症18例21関節のうち、MRI撮像から1ヶ月以内に血管造影を施行し、MRIにて明らかなbone marrow edema patternを呈した4例4関節を今回の検討対象とした。症例は4例全てが男性であり、骨頭壊死発生の誘因はステロイド性1例、アルコール性3例、検査時平均年齢は33歳（22-50歳）である。

C. 結果

大出の報告⁶⁾にある正常例の造影所見を参考にし、罹患骨頭におけるsuperior retinacular artery（以下、SRAと略す。）、inferior retinacular artery（以下、IRAと略す。）、posterior column artery（以下、PCAと略す。）の造影所見を検討した。

1) 動脈相の造影所見：起始部より4本以上に細かく

分枝するSRA、細かい分枝を有するIRA、およびSRA-IRA間の吻合枝の存在が明瞭に造影された。また、頸部から転子間にかけてPCA由来の細動脈の分枝が造影された。

2) 静脈相の造影所見：動脈相において骨頭内に細かい分枝を呈したSRA, IRAにより造影された部分では、静脈相においては造影剤の鬱滞が観察された。また、頸部から転子間にかけて動脈相においてPCA由来の細動脈により造影された部位においても造影剤の鬱滞所見が観察された。

D. 症例供覧

アルコール多飲歴を有する21歳男性。厚生労働省改訂分類ではType C-2, Stage 3A（図1-a）。MRI T1強調画像において骨頭荷重部に明瞭なBand像と、その遠位から頸部、転子間にかけてびまん性の低信号像を認める（図1-b）。同部はT2強調画像ではびまん性の高信号域として観察される（図1-c）。選択的動脈造影の動脈相では、骨頭荷重部に全く血管の進入が認められないavascularな部分と、分界部から遠位骨頭内にはSRA, IRA由来の細動脈の増生所見、および頸部から転子間にかけてPCA由来の細動脈の増生所見が観察された（図1-d）。静脈相ではSRA, IRA由来の細動脈により造影された部分、およびPCA由来の細動脈により造影された部位に造影剤の鬱滞が観察された（図1-e）。



図 1-a

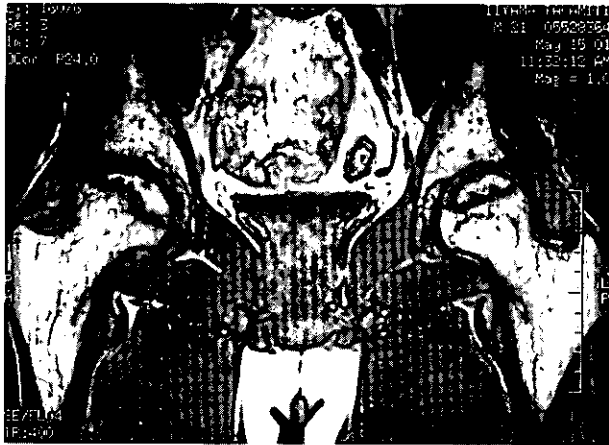


図 1-b

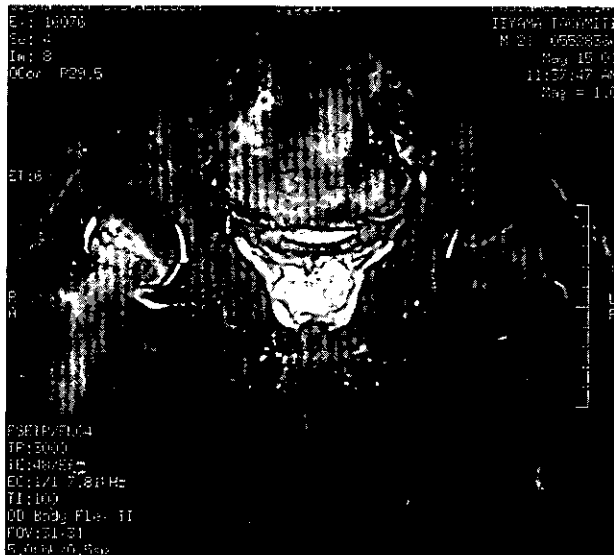


図 1-c

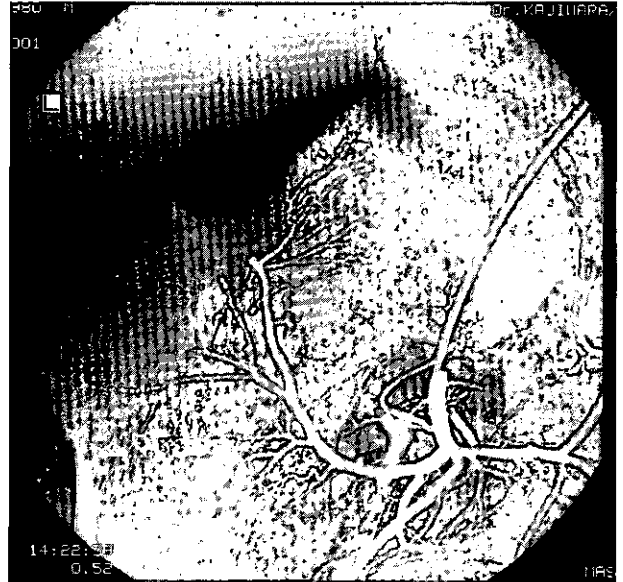


図 1-d



図 1-e

E. 考案

Bone marrow edema syndrome がIONの初期変化であるという意見¹⁾³⁾⁷⁾⁸⁾には、否定的な報告が多い。藤原²⁾、Kimら⁴⁾はIONにみられるbone marrow edemaは、大腿骨頭の圧潰に伴う二次性的変化であると述べている。

一過性大腿骨頭萎縮症に見られるbone marrow edema patternも、特発性大腿骨頭壊死症に認められるbone marrow edema patternも、MRIにて認められる病変は大腿骨頭にとどまらず頸部から転子間にまで及んでいるが、これらの疾患の病因が完全に解明されていないのと同様に、画像上の病変が広範囲に及ぶ原因も明らかではない。

今回はMRIにて明らかなbone marrow edema patternを呈したION症例の選択的血管造影所見を提示した。結果として、MRIにてbone marrow edema patternが認められた部位に一致して、動脈相では細小血管の増生所見、静脈相では造影剤の鬱滞所見が観察された。そしてその範囲は大腿骨頭壊死症に特徴的とされるband像の遠位から頸部、転子間にかけて動、静脈系の変化が認められた。

本疾患の骨頭圧潰に伴うbone marrow edema部分の病理組織学的所見は久保ら⁵⁾により報告されている。この中でband像末梢側のびまん性異常像の領域には血漿成分の滲出が認められていると報告されているが、頸部から転子間にかけての変化には言及されていない。今回の我々の血管造影からの検討はこの病理組織学的検討と矛盾するものではないが、新たな所見として頸部、転子間にPCA由来の血管増生所見が認められた。今回の所見が本疾患において病変が広範に及ぶことの原因、ひいては本疾患における病態の解明の一助となるものと考え、今後症例を増やし検討を加えていく。

F. 参考文献

- 1) Chan TW, Dalinka MK, Steinberg ME, Kressel HY. MRI appearance of femoral head osteonecrosis following core decompression and bone grafting. *Skeletal Radiol* 1991;20:103-7.
- 2) 藤岡幹浩ほか：特発性大腿骨頭壊死症と骨髓浮腫。 *Hip Joint*, 25:233-236, 1999.
- 3) Hoffman S, Engel A, Neuhold A, et al. Bone-marrow oedema syndrome and transient osteonecrosis of the hip: an MRI-controlled study of treatment by core decompression. *J Bone Joint Surg [Br]* 1993;75-B:210-216.
- 4) Kim YM, Oh HC, Kim HJ. The pattern of bone marrow edema on MRI in osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg [Br]* 2002;82-B:837-841.
- 5) 久保俊一、山本卓明、居石克夫：特発性大腿骨頭壊死症のMR画像と組織像。 *整形外科* 48:761-768.1997.
- 6) 大出武彦：選択的血管造影からみた特発性大腿骨頭壊死症。 *日整会誌*,53,293-305,1979.
- 7) Plenk H Jr, Hoffman S, Eschberger J, et al. Histomorphology and bone morphometry of the bone marrow oedema syndrome of the hip. *Clin Orthop* 1997;334:73-84.
- 8) Turner DA, Templeton AC, Selzer PM, et al. Femoral capital osteonecrosis : MR findings of diffuse marrow abnormalities without focal lesions. *Radiology* 1989;171:135-140.

特発性大腿骨頭壊死症とAGEsの関与および血管透過性亢進について

市堰 徹、西野 暢、兼氏 歩、杉森 端三
二見 智子、松本 忠美 (金沢医科大学整形外科)
勝田 省吾 (金沢医科大学同病理学Ⅱ)
加畑 多文、柳下 信一 (金沢大学整形外科)

ステロイド投与家兎の大腿骨におけるadvanced glycation end products (AGEs) の蓄積について調査した。また、血管壁の傷害を調査するために血管透過性について検討したので報告する。対象は約3.5Kgの日本白色家兎でステロイド非投与3羽をA群、メチルプレドニゾロン4mg/kgを一回のみ殿筋内投与した後、5日、14日で犠牲死とした各5羽をそれぞれB群、C群とした3群間で比較検討した。

免疫組織化学は抗AGEモノクローナル抗体および抗アルブミン抗体を用い、犠牲死後家兎の大腿骨近位部における染色性について検討した。AGEsはA群では陰性だったが、B群で壊死好発部位の大腿骨近位内側部を中心に、C群では壊死部を含む周辺部に陽性所見を認めた。また、アルブミンも同様にA群では陰性だったが、Bで壊死好発部位の大腿骨近位内側部を中心に、C群でも壊死部を中心に陽性所見を認めた。

AGEsの発現からステロイド投与による生体内酸化ストレスの発生が確認できた。また抗アルブミン抗体を用いた検討からステロイド投与後5日で血管透過性の亢進が確認され、投与後14日でも持続していた。またAGEsとアルブミンは、ほぼ同様の部位に認められたことから両者の関連性も示唆された。

ステロイドの投与による生体内酸化ストレスがAGEsなどの最終蛋白修飾物の蓄積を誘導し、血管内皮および血管壁の傷害、血管透過性の亢進をもたらすことが大腿骨頭壊死症発生の一要因であると考えられた。

A. 目的

糖尿病や腎不全等の重大な合併症である血管障害に生体内酸化ストレスによる蛋白修飾の意義が注目されている。そのうちadvanced glycation end products (以下AGEs) は、糖化最終産物で糖尿病以外の疾患においても血糖値とは無関係に著明な蓄積が認められることが示され、その過程として生体内酸化ストレスが重要な要因であることが明かにされており、血管障害への積極的な関与を示唆する報告が多く認められる¹⁻³⁾。

また、一方でステロイド性骨壊死症における組織学的検討においても血管内皮や血管壁傷害と血流障害との関連が注目されている。

今回我々は、ステロイド投与家兎の骨病変部におけるAGEsの蓄積について調査し、AGEsとステロイド性骨壊死の関連性について検討した。

また、ステロイド性骨壊死症の血管壁の傷害を調査するために抗アルブミン抗体を用いて血管透過性について検討した。

B. 対象と方法

対象は約3.5Kgの日本白色家兎でステロイド非投与家兎3羽をA群、以前の柳下らの報告⁴⁾⁵⁾によるとステロイド性骨壊死モデルにおいてVEGFは投与5日で陽性反応を認めたとしているため、ステロイド投与後5日で犠牲死とした5羽をB群、またステロイド投与後14日経過後に犠牲死とした家兎5羽をC群とした3群間で比較検討した。ステロイドはB群C群ともメチルプレドニゾロン4mg/kgを一回のみ殿筋内に注入した。犠牲死後家兎の大腿骨を摘出し、ホルマリンにて固定後、パラフィン包埋標本を作製した。免疫組織化学は抗AGEモノクローナル抗体を用い、骨