

これらの症状は数日で消失した。術後それぞれ1年、1年3ヶ月で、2例とも股関節の愁訴はない。(症例2は経過中股関節痛がみられたが、X線、MRIで著変を認めず、安静により消失したので、合併している亜脱臼によるものと判断した。)X線では著変を認めず、陥没は生じていない。(図5、7)MRIでは、壊死域の大きさは著変認めないが、症例1では照射後1年のMRIで照射前に比べ低信号のバンドの幅が拡大している。(図6、8)



図7. 症例2、単純X線。5-a; 照射前、5-b; 照射後3ヶ月、5-c; 照射後1年。

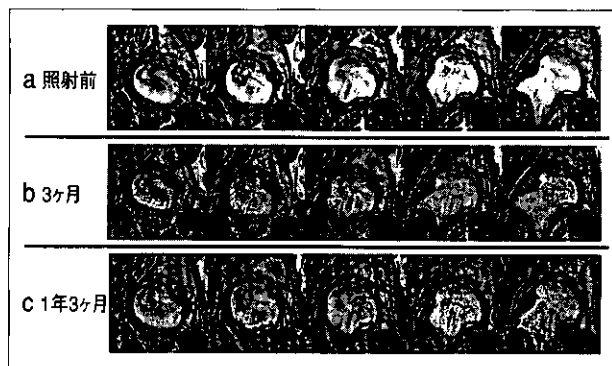


図8. 症例2、MRI、T1強調画像、冠状断。5-a; 照射前、5-b; 照射後6ヶ月、5-c; 照射後1年3ヶ月

## F. 考察

衝撃波は非常に急速に立ち上がる高いピークを持つ単一の圧力波である。衝撃波は音響インピーダンス(音の伝わりやすさ)の異なる境界面でエネルギーを放出する性質を有しており、この性質を利用して尿路結石の治療(碎石)に広く用いられている。つまり体内に向けて照射された衝撃波は、軟部組織(脂肪組織、筋肉など)の音響インピーダンスが余り異なるためエネルギーを放出することなく軟部組織中を進んでゆくが、軟部組織と音響インピーダンスの大きく異なる結石に達するとその表面でエネルギーを放出し、結石を破碎する。

一方、適切な強さの衝撃波を骨に照射すると骨新生を促進すると報告されている<sup>1)4)</sup>。その機序は骨に微少な骨折や骨膜剥離を引き起こすためであると

報告されている<sup>1)2)3)4)</sup>。さらに、偽関節や遷延癒合に対して衝撃波を照射し、高率に骨癒合を得たという報告が多数なされている<sup>4)10)11)12)13)</sup>。Ludwigらは、衝撃波療法を大腿骨頭壊死症に応用し、Association Research Circulation Osseus 分類<sup>14)</sup>のstage I、II、IIIの大腿骨頭壊死症に対して衝撃波を照射したところ、照射後1年で21股中10股でMRI上壊死域の消失もしくは縮小を認め、重篤な合併症はなかったと報告している<sup>9)</sup>。

残念ながら我々はLudwigらの報告しているような壊死域の縮小は認めなかった。しかし、特に壊死域が広範なtype Cである症例1において、照射後1年3ヶ月間陥没が生じていないことに関しては、衝撃波が良い影響をおよぼした可能性、つまり骨頭内の骨新生が促進され、強度が増加し、陥没を免れている可能性がある。

陥没が生じる前(stage 1、2)に大腿骨骨切り手術、血管柄付骨移植、core decompression などを行うという選択肢も報告されているが、壊死域が広範なtype C においてさえ、陥没が起これば症状の出現しない症例が存在するので、我々は陥没が生じ疼痛が生じるまでは手術を勧めていない。体外衝撃波療法は腰椎麻酔を要するが、手術に比べれば低侵襲であり、照射後の副作用は前述したように非常に軽微である。

また、衝撃波は関節軟骨を通過して骨頭に照射するのだが、衝撃波が関節軟骨に与える影響については解明されていない。少なくとも上記の照射条件では照射後1年では股関節痛の発生はなく、X線、MRI上も著変は認めていない。

## G. まとめ

今回、我々の2症例では残念ながらLudwigらが報告<sup>9)</sup>しているような壊死域の縮小は認められなかった。しかし、陥没が生じていないことに関しては、衝撃波が良い影響をおよぼした可能性がある。

## H. 文献

- 1) 池田和夫：体外衝撃波. 臨整外35:1532-4、2000
- 2) Schleberger R, Senge T. Non-invasive treatment of long-bone pseudarthrosis by shock waves (ESWL). Arch Orthop Trauma Surg 111: 224-7, 1992
- 3) Johannes EJ, et al. High-energy shock waves for the treatment of nonunions: An experiment on dogs. J Surg Res 57: 246-52, 1994

- 4) Valchanou VD, Michailov P. High energy shock waves in the treatment of delayed and nonunion of fractures. *Int Orthop* 15: 181-4, 1991
- 5) Thiel M. Application of shock waves in medicine. *Clin Orthop* 387: 18-21, 2001
- 6) Haupt G, Chvapil M. Effect of shock waves on the healing of partial-thickness wounds in piglet. *J Surg Res* 49: 45-8, 1990
- 7) 村本敏明ら：筋腱付着部炎に対する体外衝撃波治療装置の臨床経験. *整形外科*50：805-9、1999
- 8) Rompe JD, et al. Analgesic effect of extracorporeal shock-wave therapy on chronic tennis elbow. *J Bone Joint Surg(B)* 78-B: 233-7, 1996
- 9) Ludwig J, et al. High-energy shock wave treatment of femoral head necrosis in adults. *Clin Orthop* 387: 119-26, 2001
- 10) Schaden W, et al. Extracorporeal shock wave Therapy of nonunion or delayed osseous union. *Clin Orthop* 387: 90-4, 2001
- 11) Wang CJ, et al. Treatment of nonunion of long bone fractures with shock waves. *Clin Orthop* 387:95-101, 2001
- 12) Rompe JD, et al. High-energy Extracorporeal shock wave treatment of nonunions. *Clin Orthop* 387: 102-11, 2001
- 13) 体外衝撃波骨形成誘導法の偽関節治療への応用. *整形外科*50：1497-1501、1999
- 14) Steinberg ME, et al. A quantitative system for staging avascular necrosis. *J Bone Joint Surg(A)* 77-A: 34-41, 1995

## 大腿骨頭壊死症に対する彎曲内反骨切り術の短期成績

坂野 真士、長谷川幸治、鳥居 行雄  
川崎 雅史、増井 徹男、山口 仁

(名古屋大学大学院医学系研究科運動・形態外科学)

大腿骨頭壊死症に対する彎曲内反骨切り術の短期成績をレントゲン学的に調査した。1990年8月から2002年5月までに彎曲内反骨切り術をおこなった20関節を対象とした。経過観察期間平均47ヶ月（7-148ヶ月）の後、レントゲン学的に2mm以上の骨頭圧潰を認めたのは2関節のみであった。人工股関節に置換を必要とした症例はなかった。彎曲内反骨切り術により得られた内反角度は平均31度に対して、下肢短縮は平均1.2cmであり、従来の楔状内反骨切り術と比較して内反角度を大きくしても下肢短縮は少なくできた。彎曲内反骨切り術は、術前最大外転位像でType Bになる大腿骨頭壊死症の治療法として有用である。

### A. 研究目的

大腿骨頭壊死症、なかでも特発性大腿骨頭壊死症は青壮年期に多く発症し、日常生活動作や労働生産性に大きな障害をきたす。人工股関節置換術は大腿骨頭壊死症の治療法として短期的には除痛効果は大きい、長期的には若年者におこなった人工関節は緩みや骨溶解により再置換術が必要になる可能性が高い<sup>1)2)</sup>という大きな問題がある。よって、大腿骨頭壊死症の治療は、可能であれば関節を温存する治療を考える必要がある。Pauwelsの楔状内反骨切り術は関節温存手術として良好な成績<sup>3-7)</sup>が報告されている。しかし、楔状内反骨切り術は下肢の短縮、大転子の外方化、偽関節の可能性など手術法としては問題点が残っている。この問題点を解決するべく西尾ら<sup>8)</sup>は大腿骨頭壊死症および変形性股関節症の治療法として彎曲内反骨切り術を考案した。近年、変形性股関節症に対する彎曲内反骨切り術の成績報告は散見されるが、大腿骨頭壊死症に対する彎曲内反骨切り術の成績報告は極めて少ない。本研究の目的は、大腿骨頭壊死症に対する彎曲内反骨切り術の短期成績をレントゲン学的に調査することである。

### B. 症例・方法

1990年8月から2002年5月までに大腿骨頭壊死症に対して行った彎曲内反骨切り術20例20関節（男性10例、

女性10例）を対象とした。手術時平均年齢は38歳（17-61歳）、病因はステロイド性13関節、アルコール性1関節、ステロイド兼アルコール性2関節、特発性1関節、外傷性3関節であった。手術適応は厚生労働省分類<sup>9)</sup> Type C-1またはC-2で、術前最大外転位X線像で荷重部健全域が1/3以上の症例とした。検討項目は単純レントゲン像において、1) 手術により得られた内反角度、2) 術前正面像で荷重部健全域の割合、3) 術後正面像で荷重部健全域の割合、4) 下肢短縮量（大転子上方化量）、5) 大転子外方化量、6) 圧潰の進行（荷重部の2mm以上圧潰）の有無、7) 関節症変化（関節裂隙の狭小化）の有無、8) 合併症とした。荷重部健全域の割合は杉岡ら<sup>10)</sup>の方法で行った。下肢短縮量（大転子上方化量）は両側の

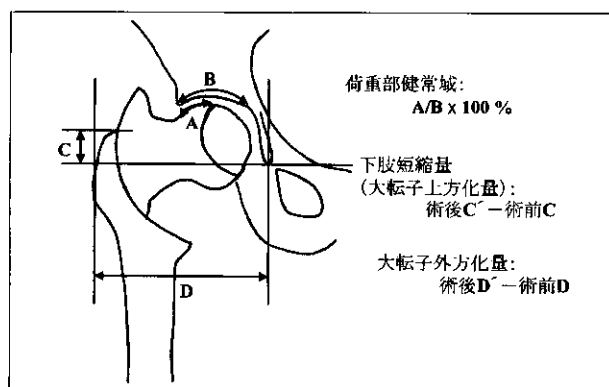


図1

涙痕下端を結んだ線から大転子上端までの距離を術前後で比較し、大転子外方化量は涙痕から大転子外側までの距離を術前後で比較しておこなった(図1)。

### C. 結果

術後経過観察期間は平均47ヶ月(7-148ヶ月)であった。彎曲内反骨切り術により得られた内反角度は平均31度(15-46度)であった(図2)。術前正面像での荷重部健常域は平均19%であり、術後正面像での荷重部健常域は平均61%と増加していた。下肢短縮量(大転子上方化量)は平均1.2cm(0.5-2.0cm)であり、補高靴を必要とする症例はなかった。大転子外方化量は平均0.5cm(0-1.7cm)と非常に少なかった。圧潰の進行(荷重部の2mm以上圧潰)を2関節に、関節症変化(関節裂隙の狭小化)を2関節に認めた。合併症として2関節で大骨用裸子刺入部骨折を認めたが、保存的に骨癒合した。固定にコンプレッションヒップスクリューを使用した10例には骨折は発生しなかった(図3)。骨切り部の偽関節を生じた症例はなかった。全例を通じて、人工股関節に置換を必要とした症例はなかった。

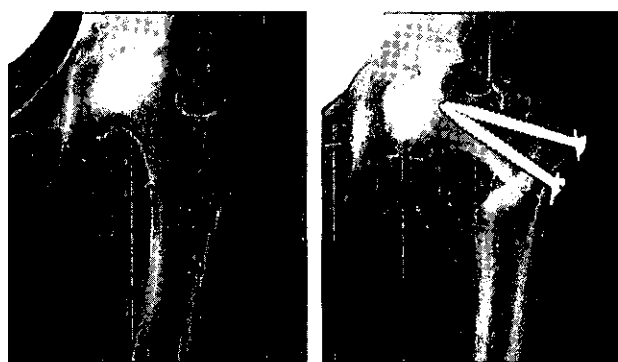


図2 (術前) (術後)

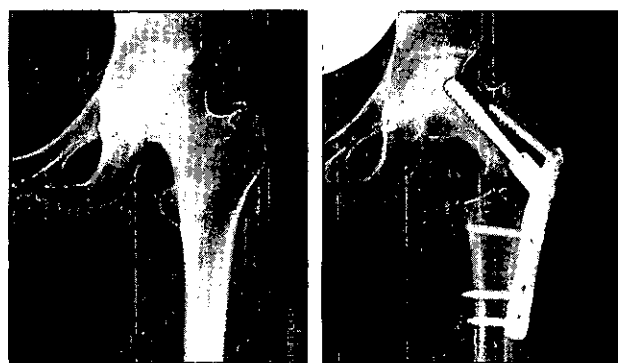


図3 (術前) (術後)

### D. 考察

大腿骨頭壊死症に対する彎曲内反骨切り術の成績はSaitoら<sup>11)</sup>が4関節を2年以上経過観察し圧潰はなかったと報告している。また、小寺ら<sup>12)</sup>も5関節、2年以上の経過観察、平沼ら<sup>13)</sup>も7関節、1年以上の経過観察で圧潰はなしと報告している。しかしいずれも、少数症例による報告であった。本研究では、20関節を平均47ヶ月(7-148ヶ月)経過観察した。この20関節のうち2関節に圧潰を認めた。しかし、いずれも内側壊死部の圧潰で外側の健常部は圧潰せずここで荷重を受けることができていたため人工股関節への置換を必要としていなかった。

従来の楔状内反骨切り術では約10%の偽関節、癒合遅延発生率<sup>6)7)</sup>があるのに対して、本研究では20関節のうち偽関節、癒合遅延を生じたものはなかった。また、楔状内反骨切り術は、伊藤ら<sup>14)</sup>によると平均23度の内反角度に対して平均1.8cmの下肢短縮を生じ、25度以上の内反を必要とするものは楔状内反骨切り術の適応外と報告している。これに対し本研究では平均31度の内反角度に対して平均1.2cmの下肢短縮であり、彎曲内反骨切り術は内反角度を大きくしても下肢短縮は少なく抑えることができることが示された。これら彎曲内反骨切り術の利点は、考案者の西尾らが意図したことが臨床で実際に示されたといえる。

一方、彎曲内反骨切り術の唯一の欠点は大骨用裸子刺入部骨折を2関節に認めたことであった。しかしながら、固定法をコンプレッションヒップスクリューに変更してからの10例には骨折を認めなかった。このことは、柁原ら<sup>15)</sup>が7関節にて報告したスクリューおよびプレートシステムによる固定を支持するものである。よって、彎曲内反骨切り術の固定方法は原法の大骨用裸子よりコンプレッションヒップスクリューの方が望ましい。さらにコンプレッションヒップスクリューは早期荷重も可能であり、入院やリハビリ期間の短縮も可能である。今後の課題は壊死部に対して血流改善をはかることや、骨形成促進のための成長因子を併用することが必要である。

本研究において、大腿骨頭壊死症に対する彎曲内反骨切り術は、術後経過観察中に人工股関節置換を必要とした症例はなく良好な成績であった。また、従来の楔状内反骨切り術の欠点である偽関節、癒合遅延、下肢短縮、大転子外方化を抑える事ができていた。しかしながら、本研究は短期成績であり、2関

節に関節症変化を認めていることを考慮すると更なる経過観察が必要であると考えられる。

## E. 結論

彎曲内反骨切り術は適応を選べば、大腿骨頭壊死症の治療法として有用である。

## F. 文献

- 1) Ritter MA, Helphinstine J, Keating EM, Faris PM, Meding JB. Total hip arthroplasty in patients with osteonecrosis. The effect of cement techniques. Clin Orthop 338: 94-9, 1997.
- 2) Hartley WT, McAuley JP, Culpepper WJ, Engh CA Jr, Engh CA Sr. Osteonecrosis of the femoral head treated with cementless total hip arthroplasty. J Bone Joint Surg [Am] 82-A: 1408-13, 2000.
- 3) Pauwels F. The place of osteotomy in the operative management of osteoarthritis of the hip. Triangle 8: 196-210, 1968.
- 4) Merle D'Aubigne R, Postel M, Mazabraud A, Massias P, Gueguen J, France P. Idiopathic necrosis of the femoral head in adults. J Bone Joint Surg [Br] 47-B: 612-33, 1965.
- 5) Kerboul M, Thomine J, Postel M, Merle d'Aubigne R. The conservative surgical treatment of idiopathic aseptic necrosis of the femoral head. J Bone Joint Surg [Br] 56-B: 291-6, 1974.
- 6) Mont MA, Fairbank AC, Krackow KA, Hungerford DS. Corrective osteotomy for osteonecrosis of the femoral head. J Bone Joint Surg [Am] 78-A: 1032-8, 1996.
- 7) Ito H, Kaneda K, Matsuno T. Osteonecrosis of the femoral head. Simple varus intertrochanteric osteotomy. J Bone Joint Surg [Br] 81-B: 969-74, 1999.
- 8) 西尾篤人、杉岡洋一. 大腿骨転子部骨切り術の一つの工夫. 20: 381-6, 1971.
- 9) 特発性大腿骨頭壊死症、診断基準・病型分類・病期分類（平成13年6月改定案）. 厚生労働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症調査研究分科会、平成12年度研究報告書（分科会長 高岡邦夫）123-127, 2001.
- 10) Sugioka Y, Katsuki I, Hotokebuchi T. Transtrochanteric rotational osteotomy of the femoral head for the treatment of osteonecrosis. Follow-up statistics. Clin Orthop 169: 115-26, 1982.
- 11) Saito S, Ohzono K, Ono K. Joint-preserving operations for idiopathic avascular necrosis of the femoral head. Results of core decompression, grafting and osteotomy. J Bone Joint Surg [Br] 70-B: 78-84, 1988.
- 12) 小寺正純、石井良章、田原泰久、小山晋一、鶴飼康二. 転子間彎曲内反骨切り術（西尾式内反骨切り術）の治療経験. Hip Joint 25: 201-5, 1999.
- 13) 平沼泰成、渥美敬、村木稔、吉原哲、柁原俊久、戸嶋潤. 当科における特発性大腿骨頭壊死症に対する大腿骨内反骨切り術の適応と術後経過. Hip Joint 25: 253-9, 1999.
- 14) 伊藤浩、金田清志、松野丈夫. 特発性大腿骨頭壊死症に対する大腿骨内反骨切り術の適応と限界. 別冊整形外科 35: 139-143, 1999.
- 15) 柁原俊久、渥美敬、小原周、山野賢一、黒木良克. チタン製スクリュウおよびプレートシステムを用いた転子間彎曲内反骨切り術の経験. 関節外科 14: 127-31, 1995.

## Stage4大腿骨頭壊死症に対する後方回転骨切り術 —白蓋の早期改変について—

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

Stage4大腿骨頭壊死症には人工関節が行われることが多い。しかし、青壮年期では関節温存手術が望ましい治療である。今回、Stage4大腿骨頭壊死症に行った後方回転骨切り術後の白蓋の改変をX線正面像から検討した。術後早期から臼荷重部骨硬化帯は萎縮し、約1から2年で新たに再構築が起こり均一な臼荷重部骨硬化帯が形成された。この状態は末期変形性股関節症に対する外反骨切り後の変化に類似するものである。

### A. はじめに

大腿骨頭壊死症の治療は、本症が青壮年期に発症する事が多いことから関節温存手術が重要視される。しかし、病期が進んだ症例には安易に人工骨頭・関節置換術が施行されているのが現状である。一方、白蓋形成不全に続発する変形性股関節症では、進行期、末期においても年齢の若い症例では骨切り術の適応が確立され、長期の関節温存効果が報告されている<sup>8)9)</sup>。このことから、進行期大腿骨頭壊死症においても関節温存治療が行われるべきである。我々は、初期のみならず関節裂隙が狭小化した進行期大腿骨頭壊死症に対しても大腿骨頭回転骨切り術を行い良好な結果を得ているが<sup>1-7)</sup>、今回、Stage4大腿骨頭壊死症に対する大腿骨頭後方回転骨切り術後早期における臼荷重部骨硬化帯の改変の検討を行ったので報告する。

### B. 対象および方法

対象は大腿骨頭後方回転骨切り術を施行したStage4大腿骨頭壊死症18関節（15例）である。年齢は15-52才、平均36才であり、女性11例、男性4例である。壊死発症の誘因はステロイド多量投与が9関節、アルコール多飲が1関節、狭義の特発性が1関節、外傷性が7関節である。全例とも班会議改訂分類<sup>13)</sup> Stage4と判定された症例である。

臼荷重部骨硬化帯の改変は、萎縮、硬化帯の均一化を術後6ヶ月、1年（16関節）、2年（18関節）のX線正面像にての変化を観察した。同時期に行われた症例のうち術後早期圧潰をきたした1関節を除外した。

### C. 結果

術後6ヶ月においては18関節全例に臼荷重部硬化帯の萎縮がみられた。術後1年では萎縮は18関節中10

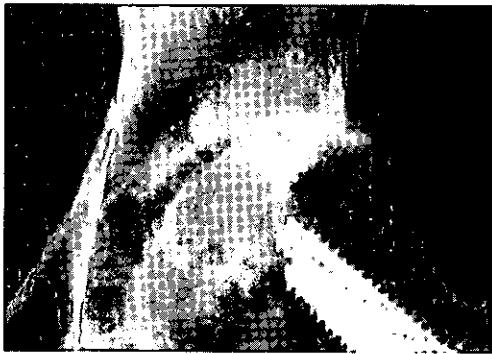
	6ヶ月 (n=18)	1年 (n=18)	2年 (n=16)
<b>萎縮</b>	<b>18 (100%)</b>	<b>10 (56%)</b>	<b>0</b>
<b>硬化帯の均一化</b>	<b>0</b>	<b>8 (44%)</b>	<b>16 (100%)</b>

表1. 臼荷重部骨硬化帯の変化

関節に減少し、8関節では硬化帯の均一化が生じていた。術後2年（16関節）では全例に硬化帯の均一化がみられた（表1，図1）。



A



B



C

図1. 38才 女性 特発性 90度後方回転例

- A：術前は関節裂隙はほぼ消失している。臼蓋の著明な骨硬化がみられる。  
 B：術後6ヶ月、臼荷重部硬化帯は萎縮を呈し、関節裂隙は拡大した。  
 C：術後2年、臼荷重部硬化帯は均一化し良好な関節が形成された。

#### D. 考案

大腿骨頭壊死症は青壮年期に発症することが多く関節温存手術が重要視される。

杉岡により考案された大腿骨頭回転骨切り術は、最も

安定した関節温存手術である。杉岡は、前方回転骨切り術の術後成績から、病像早期のみならずStage4においても適応が十分にあることを報告した<sup>10-12)</sup>。我々の行っている後方回転骨切りにおいても、広範囲壊死を有する進行期例において同様に十分な関節温存効果が確認されている<sup>1-7)</sup>。一度変性した関節が改変することは、進行期・末期変形性股関節症に対する外反または外反伸展骨切り術後変化で明らかにされている<sup>8)9)</sup>。今回の結果から、Stage4大腿骨頭壊死症に対する後方回転骨切り術において、術後2年以内に改変が十分に生じることが明らかとなり、同時に関節裂隙の拡大も得られた。以上から、大腿骨頭壊死症の治療は、病期が進行した場合には人工股関節置換術が安易に行われる傾向にあるが、変形性股関節症に対する骨切り術と同様に若年者においては、回転骨切り術が関節温存手術として行われるべきである。

#### E. まとめ

1. Stage4大腿骨頭壊死症に対する後方回転骨切り術後の臼荷重部骨硬化帯の変化をX線正面像から検討した。
2. 術後早期から変化がみられ、2年において臼荷重部骨硬化帯の均一化がみられた。
3. 病像が進行した若年者大腿骨頭壊死症においても臼蓋の改変が生じる為、後方回転骨切り術は有効な関節温存手術である。

#### F. 文献

- 1) 渥美敬、黒木良克、山野賢一ほか：大腿骨頭壊死症に対する130度以上後方回転骨切り術一獲得健全域と骨変化について。Hip Joint 20：198-201，1994。
- 2) 渥美敬、黒木良克、山野賢一ほか：青壮年期大腿骨頭壊死症に対する高度後方回転骨切り術一術後2年以上経過例のX線学的検討。Hip Joint 22：276-278，1996。
- 3) 渥美敬、黒木良克、山野賢一ほか：大腿骨頭壊死症に対する大腿骨頭後方回転骨切り術の成績と適応。東日本臨整会誌9：430-433，1997。
- 4) Atsumi T, Kuroki Y：Modified Sugioka's osteotomy；more than130 degree posterior rotation for osteonecrosis of the femoral head with large lesion. Clin. Orthop. 334：98-107，1997。
- 5) Atsumi T, Muraki M, Yoshihara S, et al:Posterior rota-

tional osteotomy for the treatment of femoral head osteonecrosis. Arch Orthop Trauma Surg 119:388-393, 1999.

- 6) 渥美敬、村木稔、吉原哲ほか：大腿骨頭壊死症に対する後方回転骨切り術 —適応と成績に対する考察。別冊整形外科35：133-138,1999.
- 7) 渥美敬：大腿骨頭壊死症に対する大腿骨頭回転骨切り術の適応・術式・成績。Hip Joint 28,8-16,2002.
- 8) Bombelli R, Gerundini M, Aronson J: The biomechanical basis for osteotomy in the treatment of osteoarthritis of the hip: results in younger patients. Hip 1984:18-42.
- 9) 平沼泰成、渥美敬、山野賢一ほか：特発性大腿骨頭壊死症に対する高度後方回転骨切り術 —単純X線正面像における骨頭内側壊死域の修復に関する検討—。Hip Joint27:87-90, 2001.
- 11) Sugioka, Y. : Transtrochanteric anterior rotational osteotomy of the femoral head in the treatment of osteonecrosis affecting the hip ; a new osteotomy operation. Clin. Orthop. 130 : 191~201, 1978.
- 12) Sugioka, Y.: Transtrochanteric rotational osteotomy of the femoral head osteonecrosis, Perthes' disease, slipped capital femoral epiphysis and osteoarthritis of the hip; indication and results. Clin Orthop 184:12-23, 1984.
- 13) Sugioka, Y. Hotokebuti, T., Tsutui, H : Transtrochanteric anterior rotational osteotomy for idiopathic and steroid-induced necrosis of the femoral head ; indication and long-term results. Clin Orthop 227 : 111-120, 1992.
- 14) 高岡邦夫、渥美敬、大園健二ほか：特発性大腿骨頭壊死症 診断基準・病型分類・病期分類。厚生労働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症調査研究分科会，2001.



## 特発性大腿骨頭壊死症に対する人工骨頭・人工関節置換術の術後成績 (多施設共同研究):骨頭壊死Stage II・III症例での検討

小林 千益、堀内 博志	(信州大学整形外科)
菅野 伸彦、西井 孝、吉川 秀樹	(大阪大学整形外科)
山本 卓明、野口 康男	(九州大学医学部整形外科)
高尾 正樹、大園 健二	(国立大阪病院整形外科)
熊谷 優、樋口富士男	(久留米大学医学部整形外科)
井上 重洋、末原 洋、久保 俊一	(京都府立医科大学整形外科)
杉森 端三、兼氏 歩、松本 忠美	(金沢医科大学整形外科)
原田 真一、榎本 寛、進藤 裕幸	(長崎大学医学部整形外科)
大西 英生、中村 利孝	(産業医科大学整形外科)
山野 健一、平沼 泰成、渥美 敬	(昭和大学藤が丘病院整形外科)
鳥居 行雄、長谷川幸治	(名古屋大学医学部整形外科)
寺西 正、松野 丈夫	(旭川医科大学整形外科)
廣田 良夫	(大阪市立大学医学部公衆衛生)
高岡 邦夫	(大阪市立大学整形外科)

12施設で1986年1月～1995年12月に特発性大腿骨頭壊死症 (ION) に行った人工骨頭置換術と人工股関節全置換術 (THA) 549関節の術後成績を調査した。先の検討では全549関節を対象に、人工骨頭・人工関節置換術の耐用性に関し、16項目の多変量生存率解析を行った。その結果、Monopolar人工骨頭は、セラミック骨頭であっても耐用性が不良であった。Bipolar人工骨頭の耐用性も、THAに劣った。今回、2次性変形性関節症を生じる前のStage II・IIIのIONに対し、Bipolar人工骨頭置換術を行うべきかTHAを行うべきかとの疑問に答えるために検討を行った。先の調査対象の中で術前ION Stage II・IIIに対し手術を行ったBipolar人工骨頭置換術267関節とTHA74関節を対象とし、多変量生存率解析 (終点は再置換術) を行った。白蓋コンポーネントの生存率は、人工骨頭置換術と比べ、セメントソケットもしくはspongiosa metalかHarrisのセメントレスソケットを用いたTHA (n=41) が有意に高く、15年生存率はそれぞれ78%と100%であった。大腿骨コンポーネントの生存率には、人工骨頭置換術とTHAの別は関連していなかった。その他の合併症として、反復性脱臼が4関節、深部感染が3関節あった。Stage II・IIIの骨頭壊死症に対する人工物置換術としては、人工骨頭置換術よりTHAの方が耐用性が優れているが、反復性脱臼には注意を要する。

### A. 目的

12施設の整形外科で1986年1月～1995年12月に特発性大腿骨頭壊死症 (ION) に行った人工骨頭置換術と人工股関節全置換術 (THA) 549関節の術後成績を調査した。先の検討では、人工骨頭・人工関節置換術の耐用性に関し、16項目の多変量生存率解析を行い、以下の結論を得た<sup>1)</sup>。

- ①白蓋側、大腿骨側とも、インプラントの機種が耐用性に影響していた。
- ②Monopolar人工骨頭は、セラミック骨頭であっても用いるべきでない。
- ③Bipolar人工骨頭はTHAに劣る。
- ④セメントレスソケットは臨床成績の優れた機種を選択するべきである。

⑤大腿骨側には、セメントステムか近位が全周性にポーラスコートされているセメントレスステムを用いるべきである。

今回、2次性変形性関節症を生じる前のStage II・IIIのIONに対し、Bipolar人工骨頭置換術を行うべきかTHAを行うべきかとの疑問に答えるために検討を行った。先の調査対象の中で術前Stage II・IIIであったIONに対し手術を行ったBipolar人工骨頭置換術267関節とTHA74関節を対象とし、多変量生存率解析（終点は再置換術）を行った。

## B. 対象

先の研究では、共同調査を行った12施設で1986年1月～1995年12月の間にION（広義の特発性大腿骨頭壊死症で、ステロイドやアルコール多飲と関連した症例も含めたが、大腿骨頸部骨折などに続発する外傷性の症例は除外）に対し手術を行った人工骨頭置換術とTHAを、経過観察の長短に関わらず全例もれなく調査し、549症例の検討結果を得た。今回は、その内、術前X線像上ION Stage II・III（2次性変形性関

節症を生じる前）であった341関節（62%）を対象に検討を行った。

## C. 方法

調査方法の詳細は、平成12年度報告書に記載した<sup>2)</sup>。終点を再置換術とした生存率に影響を及ぼす因子の検討をCox比例ハザードモデルによる多変量生存率解析で行った<sup>3)</sup>。検討項目を（表1）に示す。患者関連項目のプロフィールを（表2）に示す。このStage II・IIIの対象群は、Stage IVの群と比べ、平均年齢が低く、男の割合が多く、背景因子としてステロイド使用とアルコール多飲が多かった。ステロイド対象疾患としてはSLEが少なく腎移植例が多かった。Gustilo分類<sup>4)</sup>による患者活動性は、Stage IV群より高く、初回手術例が多かった。術前X線評価項目を（表3）に示す。83%がStage IIIであり、stovepipe canal<sup>5)</sup>の割合がStage IVの群と比べ低かった。使用された白蓋コンポーネントの内訳を（表4）に示し、大腿コンポーネントの内訳を（表5）に示す。

<b>[患者関連]</b>	<b>[術前X線像]</b>
年齢	骨頭壊死のstage
性別	骨頭壊死のtype
背景因子	関節症のstage
(ステロイド対象疾患も)	骨棘形成程度
片側・両側の別	大腿骨近位髓腔形状
活動性	
身長	<b>[手術]</b>
体重	白蓋コンポーネント
BMI	大腿コンポーネント
以前の手術	

表1. 生存率影響因子解析の検討項目

年齢:	47±13 y ↓ *
性別:	M 59% ↑, F 41% ↓ *
背景因子:	ステロイド 52% ↑, アルコール 31% ↑, 両者なし 17% ↓ *
	[ステロイド対象疾患] SLE 32% ↓, 腎移植 9% ↑, ネフローゼ 5% ↓, 骨髄移植 0% ↓, 他疾患 47% ↑
Charnleyカテゴリー:	A 24%, B 73%, C 3%
活動性:	I(sedentary) 4% ↓, II(non-strenuous) 43% ↓, III(mod-strenuous) 40% ↑, IV(very active) 3% ↑ *
身長:	161±9 cm
体重:	59±10kg
BMI:	23±2.9
前手術:	なし 92% ↑ *
	注) ↓ or ↑ * : p < 0.05 vs Stage IV

表2. 患者関連項目

ION stage:	II 17%, III 83% ↑ *
ION type:	I B 2%, I C 81%, II 5%, III 4%, 不明 9%
OA stage:	前期 53% ↑, 早期 40% ↑, 不明 7% *
骨棘形成:	関節症前早期 93% ↑, 不明 7% *
Canal flare index:	3.8±0.7 (stovepipe canal 7.9% ↓ *)
	注) ↓ or ↑ * : p < 0.05 vs Stage IV

表3. 術前X線評価項目


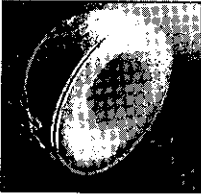
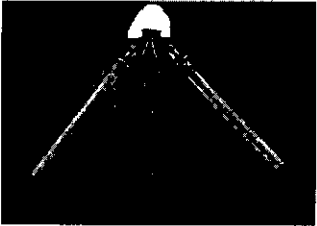

	<b>Monopolar:</b> 5%	<b>Cemented socket:</b> 8% ↓	
	<u>Bioceram(Al):</u> 76%	<u>Bioceram</u> 47%	
	Austin-Moore: 24%	<u>Charnley</u> 39%	
	<b>Bipolar:</b> 60% ↑	他 14%	
	<u>Osteonics</u> 37%	<b>Uncemented socket:</b> 11% ↓	
	Bioceram(Al) 11%	<u>Spongiosa</u> 37%	
	Anatomic 10%	<u>Osteonics</u> 26%	
	Bateman 5%	Lord 16%	
	Harris 3%	Harris 5%	
	他 34%	他 16%	
	↓ or ↑ * : $p < 0.05$ vs Stage IV		

表 4. 臼蓋機種 \*

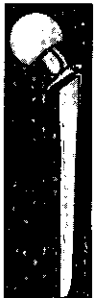




	<b>Cemented:</b> 13%	<b>パッチ状porous coat:</b> 13%	
	<u>Bioceram</u> 33%	<u>Omniflex</u> 71%	
	<u>Charnley</u> 26%	<u>Harris</u> 20%	
	Omnifit 15%	他 9%	
	他 26%	<b>全周性porous coat:</b> 32% ↓	
	<b>開窓ステム:</b> 15%	<u>Spongiosa</u> 45%	
	<u>Bioceram</u> 64%	<u>Perfix</u> 14%	
	Bateman 35%	Lord II, III 14%	
	<b>Press-fit:</b> 26% ↑	他 27%	
	<u>Omnifit</u> 93%		
			
	注) ↓ or ↑ * : $p < 0.05$ vs Stage IV		

表 5. 大腿機種 \*

#### D. 結果

Cox比例ハザードモデルによる多変量生存率解析で、臼蓋コンポーネントの臼蓋側再置換術を終点とした生存率については、臼蓋コンポーネントの機種のみが有意な危険因子となっていた(表6)。セメント固

Component	危険因子 ( $\rho$ )	内容
臼蓋	臼蓋機種 (0.0009)	Bipolarは、THA(cemented, Spongiosa, Harris)に劣る
大腿	大腿機種 ( $\ll 0.0001$ )	開窓、Press-fit、パッチ状porous coatは、cemented stemに劣る

表6. 多変量生存率解析 (終点=再置換)

定ソケットとspongiosa metalとHarrisのセメントレスソケットの群と比べ、Bipolar人工骨頭の生存率が有意に低かった(図1)。15年生存率はそれらのTHAの100%で、Bipolar人工骨頭置換術では78%であった。

大腿骨コンポーネントのその再置換術を終点とした生存率についても、大腿骨コンポーネントの機種だけが危険因子となっていた(表6)。セメント固定の大腿骨コンポーネントと比べ、開窓型self-lockingシステム、部分的にパッチ状にポーラスコートされているセメントレスシステム(porous-part)とpress-fitシステムは、生存率が有意に低かった(図2)。

その他の合併症としては、THAの1例(1%)が反復性脱臼を生じたが、脱臼予防装具で制御可能であった。

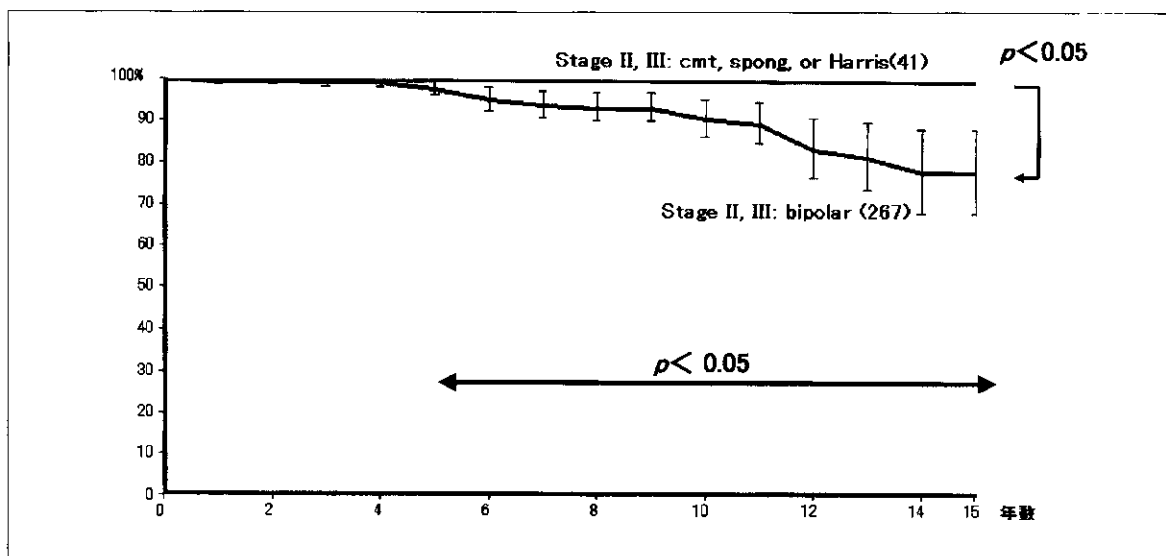


図1. Stage II, III例での臼蓋コンポーネント耐用性(終点=再置換術): 臼蓋機種だけが有意な危険因子であった。

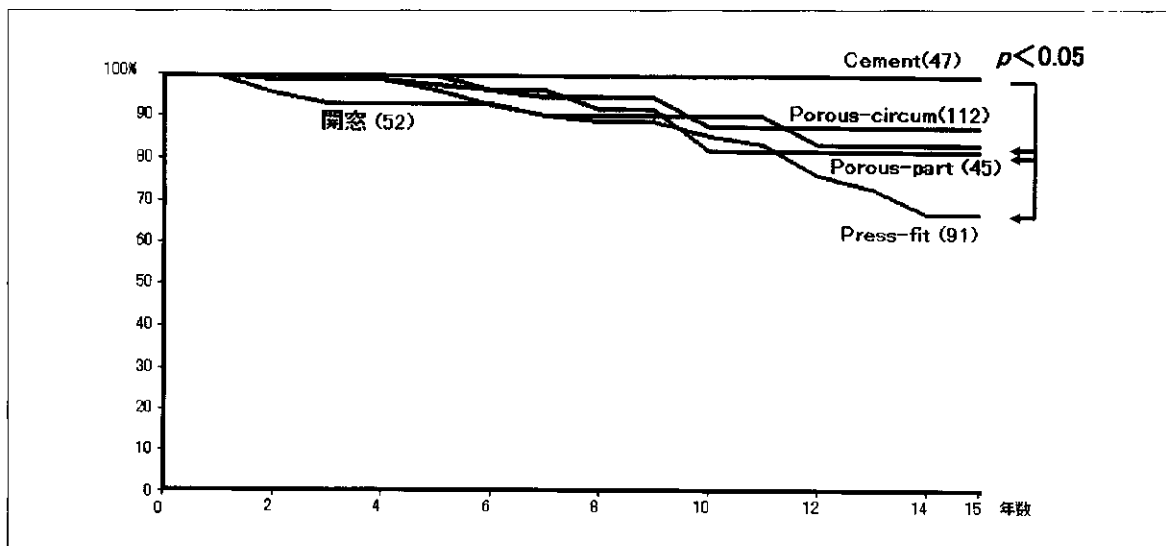


図2. Stage II, III例での大腿コンポーネント耐用性(終点=再置換術): 大腿機種だけが有意な危険因子であった。

## E. 考察

昨年度の調査で、特発性大腿骨頭壊死症に対して人工物置換術を行う場合、人工物の機種選定が重要であることが示された。今回のStage II・IIIのION例での検討でも、やはり人工物の機種が唯一その耐用性に有意に影響していた。人工骨頭置換術は、セメント固定ソケットとspongiosa metalとHarrisのセメントレスソケットを用いたTHA群と比べ、術後5年以降生存率が有意に低くなっており、15年生存率がそれぞれ78%と100%となっていた。

大腿骨コンポーネントに関しては、Press-fitシステムと部分的にパッチ状にポーラスコートされているセメントレスシステム（porous-part）と開窓型self-lockingシステムは、セメント固定システムと比べ生存率が有意に低かった。

IONで人工物置換術を行う患者は、変形性股関節症でTHAを行う患者より若く、活動性が高く、耐用性のより良い手術を要する。本研究では、2次性変形性股関節症を生じる以前のStage II・IIIのION症例で検討し、Bipolar人工骨頭置換術よりTHAの方が耐用性が優れていた。人工骨頭の近位移動とポリエチレン磨耗関連の骨融解osteolysisが人工骨頭置換術の耐用性を制限していた。THAは、比較的低年齢で活動性が高い大腿骨頭壊死症例の著しい股関節痛に対する外科的治療法として、2次性股関節症を生じる以前でも考慮されるべきと考える。

## F. 結論

ION Stage II・IIIに対する人工骨頭置換術とTHA351関節の耐用性に関し、16項目の多変量生存率解析を行い、以下の結論を得た。

- ①白蓋側、大腿骨側とも、機種が耐用性に影響していた。
- ②Bipolar人工骨頭はTHA（cemented, spongiosa, or Harris socket使用）に劣る。
- ③大腿骨側に、開窓、Press-fit、パッチ状porous coatのシステムを用いるべきでない。

## G. 文献

1. 小林千益ほか：特発性大腿骨頭壊死症に対する人工物置換術の術後成績調査.厚生労働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症調査研究分科会：平成13年度研究報告書. 2002. p35-41.

2. 小林千益ほか：特発性大腿骨頭壊死症に対する人工物置換術の術後成績調査.厚生労働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症調査研究分科会：平成12年度研究報告書. 2001. p25-38.
3. Kobayashi S, Saito N, Horiuchi H, Iorio R, Takaoka .: Poor bone quality or hip structure as risk factors affecting survival of total-hip arthroplasty. Lancet 355:1499-504, 2000.
4. Gustilo RB, Burnham WH: Long-term results of total hip arthroplasty in young patients. In The Hip: Proceedings of the tenth open scientific meeting of the Hip Society. St. Louis: CV Mosby; 1982. p27-33.
5. Noble PC, Alexander JW, Lindahl LJ, Yew DT, Granberry WM, Tullos HS: The anatomic basis of femoral component design. Clin Orthop 235: 148-65, 1988.

## H. 研究発表

第32回日本人工関節学会（2002年、名古屋市）で発表  
第75回日本整形外科学会学術集会（2002年、岡山市）にて発表

## I. 知的所有権の申請・獲得

なし

## D) 遺伝子解析

# 滑膜組織における炎症・修復の遺伝子制御： センダイウイルスベクターを用いた実験的研究

居石 克夫、山下 彰久、米満 吉和、中川 和憲  
(九州大学大学院医学研究院病理病態学分野)

無腐性大腿骨頭壊死症 (aseptic femoral head necrosis: ANF) は病理組織学的に阻血性梗塞と考えられ、壊死巣に対する炎症・修復反応が当然のことながら作用する。我々は、ANFに対する一連の炎症・修復反応を遺伝子導入により制御し、病期進展を抑制する遺伝子治療の可能性について実験的に検討した。組換えセンダイウイルスベクター (recombinant Sendai virus: SeV) を用い、ラット関節滑膜にレポーター遺伝子を導入したところ遺伝子は滑膜に広く導入され、また少なくとも7日間の有効な遺伝子発現が明らかとなった。次に、血管新生病モデルであるラットアジュバント関節炎モデルの滑膜に、血管新生因子fibroblast growth factor-2 (FGF-2)を遺伝子導入し、関節内にFGF-2を過剰発現させたところ、血管新生作用、破骨細胞分化促進作用などFGF-2本来の生理活性に加え、内因性のvascular endothelial growth factor (VEGF)の発現をも亢進させ、その結果関節炎および骨破壊が増悪することが明らかとなった。つまり、導入された遺伝子が局所において有効に発現し、更に病態修飾作用を発揮し過剰炎症、過剰修復反応の一形態である関節炎が増悪したものと考えられた。以上のことから、何らかの標的遺伝子によるANFにおける炎症・修復の遺伝子制御がANF進展抑制の有効な治療法となる可能性が示唆された。

## A. 背景と研究目的

無腐性大腿骨頭壊死症 (aseptic femoral head necrosis: ANF) の明らかな原因は未だ不明であるが、病理組織学的には典型的な阻血性梗塞の像を呈するため、組織への十分な血流供給が傷害されることに基づく病的血管新生病の一形態とも考えられている。また、ANF病巣は梗塞巣であるため、それに対する炎症・修復反応が当然のことながら働く。この炎症・修復反応は病理組織学的に、①軟骨下骨梁および骨髄の壊死、②健常部からの肉芽組織の侵入、③境界部における添加骨形成および健常部における線維性結合組織による置換と壊死組織の吸収という経過を経ることにより完成する。更に、ANFにおいてはリモデリングにより骨頭陥没 (collapse) に対する二次的変形性関節症変化が起こるが、これも病理学総論的には炎症・修復反応の一形態であるものと考えられる。しかし、実際には骨壊死巣に対する修復機転が作用すると同時にcollapseに対するリモデリングが働き、その結果関節不適合性が生じ、二次性変形性関節症

へと進展する。言い換えると、骨壊死あるいはcollapseに対する一連の炎症・修復反応を人為的に制御することが可能となればANFの進展を抑制できるものと考えられる。従って、本研究の目的は、ANFにおける病期進展および修復反応を制御する遺伝子治療の可能性を検討することである。

## B. 研究方法

〈実験1. 滑膜組織への直接的遺伝子導入および経時的遺伝子発現動態に関する検討〉

### 1) 動物

Lewisラット、8週齢、雄 (日本チャールズリバー)

### 2) 組換えセンダイウイルスベクター (recombinant Sendai virus vector: SeV)

二種類のレポーター遺伝子 (核移行シグナル付加大腸菌lacZ、ホタルluciferase) を搭載したSeVを用いた (以下それぞれSeV-lacZ、SeV-luciferaseと表記)。

### 3) ラット滑膜への遺伝子導入法

膝関節では90度屈曲位で正中中部より膝蓋腱を貫き

関節内投与、また、足関節では20度底屈位で外果の2mm遠位前外側より関節内投与した。

#### 4) 実験プロトコール

発現実験：SeV-lacZ ( $5 \times 10^7$  plaque forming unit (PFU)) を関節内投与し、2日後に関節を一塊として摘出、関節滑膜面が露出するように切開を加え、b-galactosidase substrate 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-b-D-galactoside (X-gal) 染色を施行した。経時的発現動態実験：SeV-luciferase ( $5 \times 10^7$  PFU) を関節内投与し、2, 7, 14日後に屠殺した。足関節を一塊として摘出し、関節滑膜面が露出するように切開を加え、500mlの1X cell culture lysis buffer (Promega, Madison, WI) で5分間反応させ滑膜の蛋白成分を溶出した。その後、上清20mlを用いルシフェラーゼ活性を測定した。結果は、Bradford's法にて測定した同溶液中の全蛋白量で補正し現した。

〈実験2. ラットアジュバント関節炎モデルに与える塩基性線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor-2: FGF-2) 遺伝子導入の影響：導入、発現した外来遺伝子が機能し、病態修飾作用を及ぼすか?〉

#### 1) 動物

Lewisラット、8週齢、雄 (日本チャールズリバー)

#### 2) アジュバント関節炎 (adjuvant-induced arthritis: AIA) 誘導

結核菌の死菌 (Mycobacterium Butyricum Desiccated : MBD) (Difco, Detroit, MI) 1mgを鉍物油100mlに懸濁し、ラットの尾根部に皮下投与した。

#### 3) SeV

治療ウイルスはFGF-2搭載SeV (SeV-FGF2) を、対照ウイルスはSeV-luciferaseを用いた。

#### 4) 血管新生因子の蛋白発現量

アジュバント投与後7日目に両足関節にSeV-FGF2 ( $5 \times 10^7$  PFU) を関節内投与した (AIA+FGF2群)。また、対照として両足関節にリン酸緩衝液 (phosphate buffered saline : PBS) 50mlを関節内投与した (AIA群)。2日後、それぞれの関節を一塊として摘出し、関節滑膜面が露出するように切開を加え、500mlの1X cell culture lysis buffer (Promega) で5分間反応させ滑膜の蛋白成分を溶出した。vascular endothelial growth factor (VEGF) 及びFGF-2蛋白量の測定は、それぞれマウスVEGF、ヒトFGF-2に対するELISAキット (R&D Systems) を用いて測定した。

#### 5) 実験プロトコール

(図1) に示す通り5群を設定した。

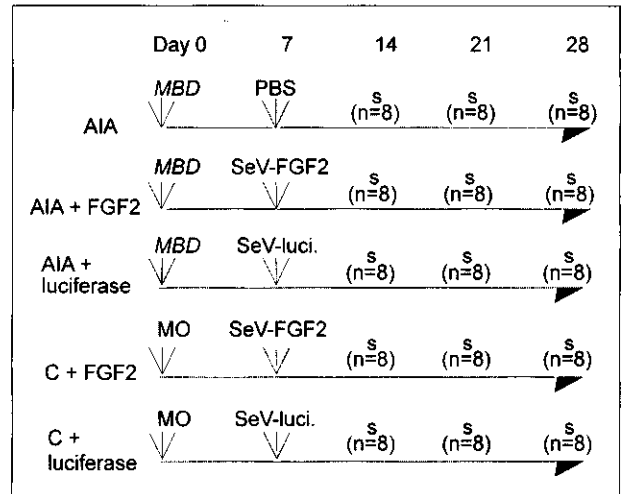


図1. FGF-2過剰発現実験プロトコール

C : nonarthritis control、MBD : injection of Mycobacterium Butyricum desiccated、MO : injection of mineral oil only as the nonarthritis control、PBS : as a mock transfection control、s : time points of sacrifice、n : number of ankle joints for this study at the time points.

#### 6) AIAの臨床的評価

ラット後肢容積の測定とSoftexを用いた軟線撮影を施行した。また、レ線の骨・関節破壊を定量化する目的でレ線の骨・関節破壊指数 (Radiological Index: RI) を設定した (0 : 所見なし、1 : 軽度の骨萎縮及び軟部陰影の腫脹、2 : 関節裂隙の狭小化及び中等度の骨萎縮、3 : 骨・軟骨ピランまたは中等度の関節破壊、4 : 高度の骨破壊による関節構造の消失)。

#### 7) 病理組織学的評価

増殖性滑膜炎の客観的評価のために、400倍視野にて脛距関節近傍の滑膜組織における浸潤顆粒球数を計測した。また、血管新生を評価する目的で、抗 von-Willebrand Factor (vWF) 抗体 (Dako, A/S, Glostrup, Denmark) を用いて免疫組織化学染色を施行し、全ての足関節で1mm<sup>2</sup>あたりの抗vWF抗体陽性の血管内皮細胞より構成される小血管を3カ所で計測し平均血管密度を算出した。また、白血球酸フォスファターゼキット (Sigma, St. Louis, MO) を用い酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (tartrate-resistant acid phosphatase : TRAP) による破骨細胞染色を行い、400倍視野にて炎症性肉芽組織中のTRAP陽性細胞を3カ所で計測し平均TRAP陽性細胞数を算出した。

#### 8) 統計学的解析

得られた結果は平均値±標準誤差で表示し、統計学的解析は、群数及び値分布に応じて一元的多群比較 (one-way ANOVA) と非パラメトリック (non-



parametric) Mann-Whitney U-testを用いて行い、危険率0.05未満で有意差ありと判定した。

(倫理面への配慮)

この動物実験は、九州大学医学部動物実験倫理委員会の審査を受け、「九州大学医学部における動物実験に関する指針」、「動物の保護及び保管に関する法律」(法律第105号)及び「実験動物の飼養及び保管に関する基準」(総理府告示第6号)の規制に基づいて行われたものである。

### C. 研究結果

〈実験1. SeVを用いたラット関節内への遺伝子導入特性〉

SeV-lacZ 関節内投与後2日目におけるX-gal染色の結果、膝、足関節において、滑膜に広範に青染斑を認めた(図2-A, B)。また、これらの関節を組織学的検索した結果、核移行型lacZ遺伝子は滑膜表層細胞に導入されたことが明らかとなった(図2-C)。次に、導入された遺伝子の経時的発現動態の検討では、平均ルシフェラーゼ活性は、2日目が2,699,012±636,700、7日目が24,621±4,650、14日目が14,522±5,134 RLU/mg proteinであった(図2-D)。この結果、

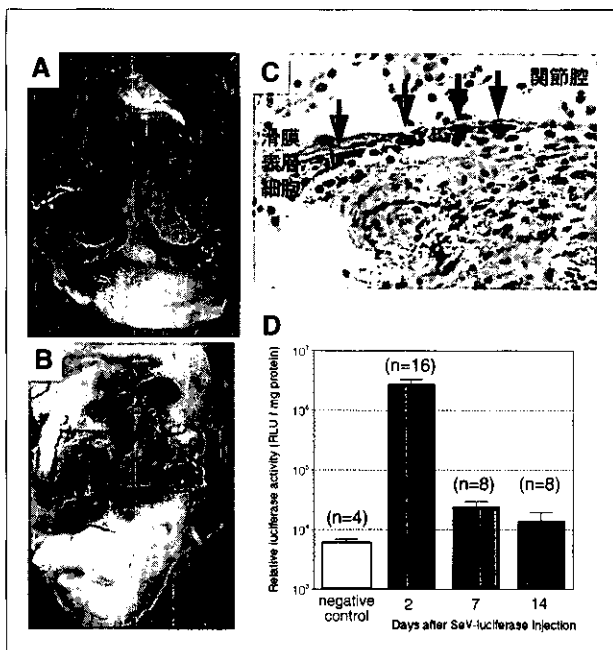


図2. センダイウイルスによるラット関節へのレポーター遺伝子導入特性  
A, BはSeV-NLS-lacZ投与2日後のX-gal染色像(6X)で、滑膜に広範にブルースポットを認めた。Cは同一個体の組織像で、lacZ遺伝子は主に滑膜表層細胞に導入されていた。Dはホタルルシフェラーゼ遺伝子を用いた、センダイウイルスベクターによる遺伝子発現の経時的変化を示す。遺伝子発現は2日目がピークで、以後、時間依存的に低下し、14日目まで検出可能であった。

関節滑膜に導入された遺伝子の発現は、少なくとも14日間は持続することが明らかとなった。

〈実験2-1. AIAにおける関節内内因性血管新生因子の発現とFGF-2遺伝子導入による変化〉

正常ラット足関節にPBS50mlを関節内投与し、2日後のFGF-2蛋白量はELISA法における検出感度以下であったが、アジュバント投与後9日目の足関節組織内FGF-2蛋白は3.9±0.5 ng/mg proteinであった。更に、アジュバント投与後7日目にFGF-2遺伝子を導入し、2日後の足関節組織内FGF-2蛋白量は、アジュバント投与による内因性発現レベルの約18倍にあたる70.2±7.7 ng/mg proteinと過剰発現を認めた(図3)。一方、ラットAIAによる関節内の内因性VEGF蛋白量は0.3±0.1 ng/mg proteinであったが、FGF-2遺伝子導入により、VEGFもFGF-2と同様にアジュバント投与による内因性発現レベルの約16倍にあたる4.9±0.6 ng/mg proteinと過剰発現を認めた(図3)。この結果より、AIAにおいてはFGF-2が内因性VEGFの発現も誘導することが示唆された。

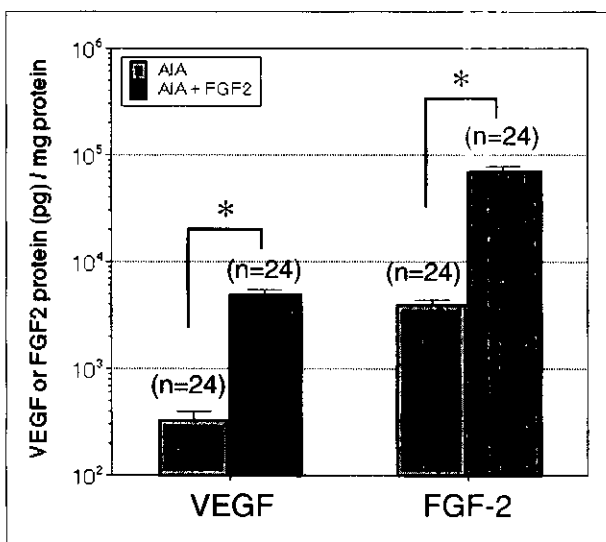


図3. ラットAIA関節における血管新生因子の発現  
ラットAIA関節中のVEGF, FGF-2蛋白量を示す。AIAによる内因性VEGF, FGF-2発現亢進を認め、更にセンダイウイルスによるFGF-2遺伝子導入により、FGF-2のみならずVEGFも著明な発現亢進を認めた。\*: p<0.01

〈実験2-2. AIAに与えるFGF-2過剰発現の影響〉

#### 1) 後肢容積

Control (以下Cと表記、アジュバント非投与) + FGF2群及びC+luciferase群では成長に伴う軽度の容積増加を認めたのみであったが、AIA群、AIA+FGF2群、AIA+luciferase群においては14、21、28日

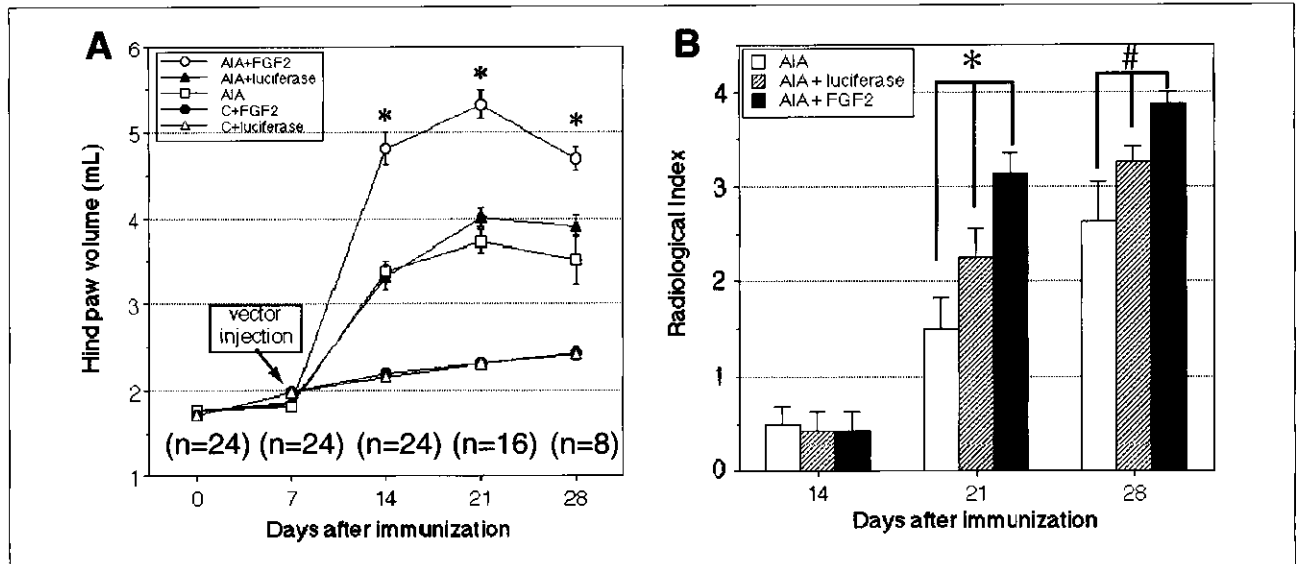


図4. 後肢腫脹及び線形的骨破壊に与えるFGF-2遺伝子導入の影響

A: 各実験群における後肢容積の経時変化を示す。Day 14, 21, 28においてAIA+FGF2群で有意な容積増加を認めた (\* $p < 0.01$ )。、# $p < 0.05$ )。

B: 各実験群におけるradiological indexを示す。Day 21, 28においてAIA+FGF2群で有意な高値を認めた (\* $p < 0.01$ , # $p < 0.05$ )。

目いずれの時点でも関節炎に伴う後肢容積の増加を認め、AIA+FGF2群で有意に高度であった ( $p < 0.001$ ) (図4-A)。

## 2) レントゲン学的評価

次に、骨・関節破壊に与えるFGF-2過剰発現の影響を検討する目的で、屠殺時に軟線撮影を施行した。アジュバント投与後28日目では、AIA+luciferase群に、関節裂隙の消失、骨全体の萎縮、骨ピラン、局所的軽度の骨溶解を認めたが、AIA+FGF2群では、高度の骨溶解、骨膜反応、関節構造の消失などより強い骨破壊所見を認めた。更に、RIに従い各観察時点で比較検討した。(図4-B)に示す通り、21及び28日目においてAIA+FGF2群が多群に比し有意に高値を示した ( $p < 0.05$ )。

## 3) 病理組織学的検討

アジュバント投与後21日目では、AIA+luciferase群において、持続する滑膜炎、フィブリンの析出、関節裂隙への好中球の浸潤、および局所的かつ軽度の軟骨ピランを認めた(図5-A)。一方、AIA+FGF2群においては、関節軟骨がほぼ全体にピランにより破壊され、更に炎症性肉芽組織が破骨細胞様多核巨細胞の浸潤を伴いながら軟骨下骨基質に浸潤している所見が認められた(図5-B)。28日目では、増殖性滑膜炎の所見が際立ち、脛骨遠位端、距骨、その他の足根骨がパンヌスに置換されている所見を認め、この所見はAIA+FGF2群に最も高度であった(結

果非提示)。浸潤顆粒球数の計測結果は、14日目においてAIA+FGF2群で有意に ( $p < 0.01$ ) 高値であった。

(図6-A)。血管密度は14日目及び21日目においてAIA+FGF2群で有意な ( $p < 0.01$ ) 増加を認め(図6-B)、ラットAIAモデルの足関節へのSeVによるFGF-2遺伝子導入は血管新生を誘導することが示唆された。また、TRAP陽性破骨細胞数は、21日目及び28日目においてAIA+FGF2群で有意な ( $p < 0.01$ ) 増加を認め(図6-C, D)、ラットAIAモデル足関節へのSeVによるFGF-2遺伝子導入は、特に病後期において、破骨細胞の浸潤と分化を誘導することが示唆された。

結果のまとめ: 以上の実験により、SeVを用いた滑膜への遺伝子導入によって、①導入された外来遺

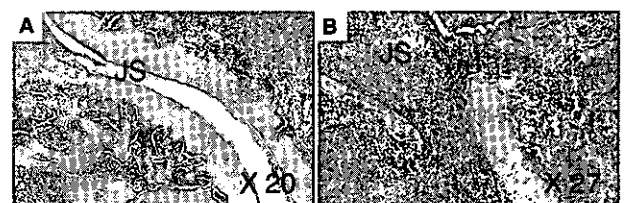


図5. FGF-2過剰発現の影響(病理組織学的所見)

Day 21におけるラット足関節の代表的組織像を示す。AIA+luciferase群では、滑膜の過形成、好中球や単核球の浸潤、フィブリンの析出など滲出性滑膜炎の所見を認める(A)。一方、AIA+FGF2群では、滲出性滑膜炎の所見に加え、軟骨のピラン、炎症性肉芽組織(パンヌス)の軟骨下骨基質への浸潤増殖を認め、また、パンヌスと骨梁との対向部には破骨細胞様多核巨細胞の浸潤を伴っていた(B)。JS: joint space, \*: erosive orifice

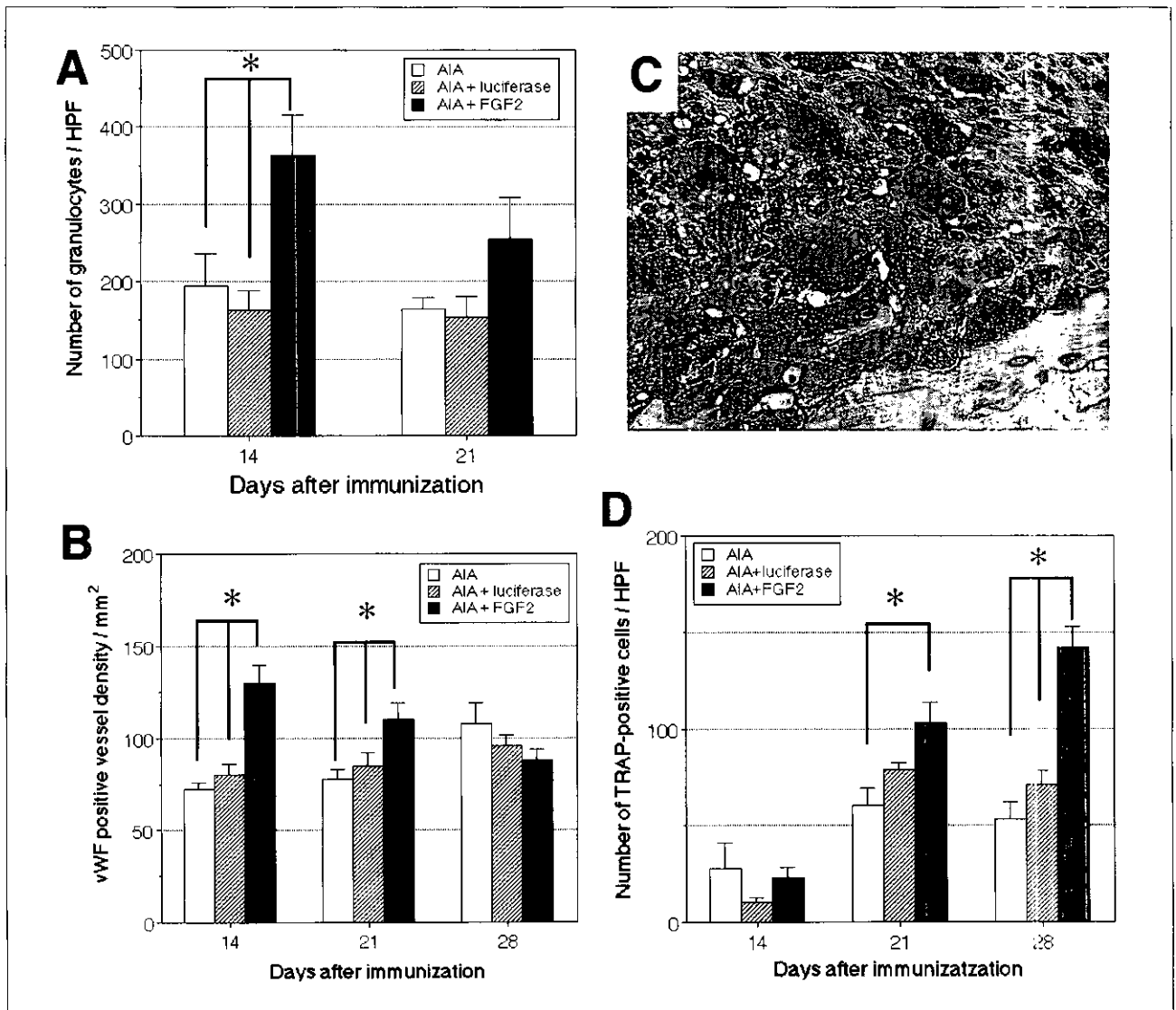


図6. FGF-2過剰発現の影響（病理組織学的評価）

A: 脛距関節部の滑膜における浸潤顆粒球を示す。B: 1mm<sup>2</sup>あたりのvWF陽性血管密度を示す。C: Day21におけるAIA+FGF2群のTRAP染色像である。赤染する多核巨細胞を破骨細胞、単核球をその前駆細胞と定義した。D: 3カ所の異なるパンナスで計測した平均TRAP陽性細胞数を示す。いずれの病理組織学的指標においてもAIA+FGF2群で有意な高値を認めた(\* $p < 0.01$ )。

伝子(治療遺伝子)が関節局所において効率よく発現すること、②治療分子は広く生理作用を及ぼし病態を修飾しうるということが明らかとなった。

#### D. 考察

我々はANFにおける炎症・修復機構を遺伝子治療により制御し、ANFの治療に応用したいと考え研究をおこなっている。ANFに限らず、ある病態に対する遺伝子治療法を確立するためには、①治療遺伝子は何が最も有効であるか?②どの程度の遺伝子発現が必要であるか?③現在用いられているベクターに臨床的に有効性を示すレベルの導入効率があるか、およびそのレベルでの安全性は?などが重要な問題

である。ANFに対する有効性が期待される分子としては、(1)骨形成促進作用: bone morphogenetic protein (BMP), FGF-2、(2)軟骨保護作用: chondromodulin-1、(3)肉芽組織形成促進作用: FGF-2、(4)血管新生促進作用: 血管新生因子 (VEGF, FGF-2)などが考えられる。今回は実験的に血管新生因子 FGF-2を用いた。AIAにFGF-2を過剰発現させた結果、血管新生の増悪、破骨細胞数の増加などの増殖性滑膜炎の増悪により関節炎のみならず骨破壊までもが増悪した。以上のことから、血管新生治療におけるFGF-2分子の有効性が示唆されたが、FGF-2の骨形成に対する促進作用の検討はもとより、その他の標的分子に関しても骨壊死モデルを用いた十分な作用

の検討が必要であるものと考えられた。

また、臨床応用に際して考えられる導入方法は、(1) ベクターを用いた滑膜への治療遺伝子導入法 (in vivo導入法)、(2) 治療遺伝子含有の人工産物を手術的に設置する方法、(3) 滑膜を採取し、体外で何らかの方法により治療遺伝子を導入する方法 (ex vivo導入法)、(4) 治療遺伝子導入細胞 (組織) の移植などであるが、我々は、関節局所における有効な遺伝子発現効率の獲得、導入操作の簡便性などの点からベクターを用いた直接的遺伝子導入法が最も実用的であるものと考えている。従って、我々の推奨する「ANF治療における遺伝子制御」のコンセプトは、①ウイルスベクターを用い滑膜組織に直接的に治療遺伝子を導入する→②発現した蛋白が関節腔内に分泌され骨組織へ広く浸透する→③治療分子は肉芽組織において生理作用をおよぼす→④治療遺伝子の生理作用に基づき炎症・修復反応が修飾あるいは制御され壊死病巣が結果的に治癒の方向に導かれるというものである (図7)。

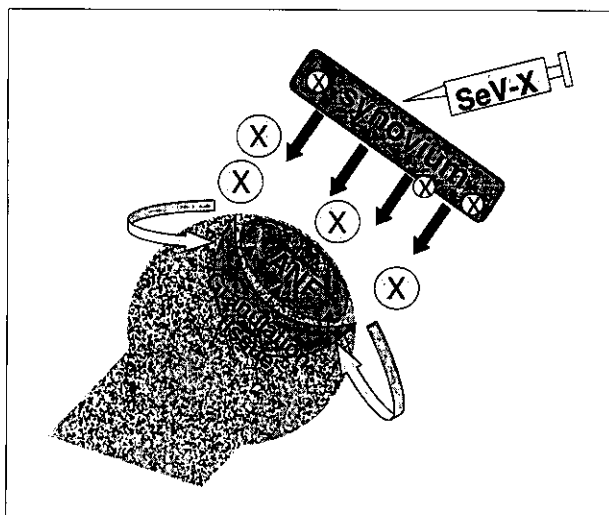


図7. 我々が考える滑膜における遺伝子制御法の模式図

股関節に治療遺伝子Xを搭載したセンダイウイルス (SeV-X) を投与し、滑膜に遺伝子を導入する。滑膜において治療分子Xが産生され、関節腔内に分泌される。治療分子Xは肉芽組織 (修復層) に浸潤到達し生物活性を発揮する。この治療分子Xの生理作用により、壊死層の修復反応が促進される。

我々は今後、ANFにおける炎症・修復の遺伝子制御の観点から、標的遺伝子の決定に関する実験的検討を重ね、ANFに対する遺伝子治療法の確立のための基礎的研究を積み上げる必要があると考えている。

## E. 結論

- 1) SeVを用い、滑膜を対象とした遺伝子制御の可能性について検討した。
- 2) その結果、関節内投与法により遺伝子は滑膜に広く導入され、また少なくとも7日間の有効な遺伝子発現が認められた。
- 3) 血管新生モデルを用いた実験的検討において、滑膜への血管新生因子遺伝子導入 (過剰発現) による病勢・病態修飾作用が認められた。
- 4) RAなどの病的血管新生に対して、SeVを用いた血管新生因子の機能制御が有効な治療法となりうることを示唆された。
- 5) 血管新生療法としての遺伝子治療法が、ANFの病期進展の抑制および修復促進に対しても応用可能であることが示唆された。