

Table 2. ION発生の危険因子

	ION		Odds Ratio: OR			
	発生群	非発生群	Crude OR (95% CI)	p	Adjusted OR* (95% CI)	p
性別: n (%)						
女性	10 (33.3)	28 (26.4)	1		1	
男性	20 (66.7)	78 (73.6)	0.72 (0.30-1.72)	0.457	0.87 (0.34-2.24)	0.769
移植時年齢						
(per one year)			1.03 (1.00-1.07)	0.088	1.06 (1.01-1.11)	0.012
免疫抑制剤						
Cyclosporin: n (%)	24 (80.0)	67 (63.2)	1		1	
Tacrolimus: n (%)	6 (20.0)	39 (36.8)	0.43 (0.16-1.14)	0.090	0.51 (0.14-1.79)	0.291
移植腎: n (%)						
生体腎	24 (80.0)	92 (86.8)	1		1	
死体腎	6 (20.0)	14 (13.2)	1.64 (0.57-4.73)	0.357	0.71 (0.22-2.31)	0.567
急性拒絶反応: n (%)						
なし	27 (90.0)	87 (82.1)	1		1	
あり	3 (10.0)	19 (17.9)	0.51 (0.14-1.85)	0.305	0.94 (0.23-3.83)	0.932
ステロイドプロトコール						
少量	10 (33.3)	62 (58.5)	1		1	
大量	20 (66.7)	44 (41.5)	2.82 (1.20-6.61)	0.017	2.54 (0.83-7.81)	0.104
ABCB1 遺伝子型 : n (%)						
3435CC	12 (40.0)	34 (32.1)	1		1	
3435CT	17 (56.7)	49 (46.2)	0.98 (0.42-2.32)	0.969	1.02 (0.40-2.57)	0.973
3435TT	1 (3.3)	23 (21.7)	0.12 (0.02-1.01)	0.052	0.10 (0.01-0.89)	0.039
			Trend: p = 0.072		Trend: p = 0.070	
3435CC or CT	29 (96.7)	83 (78.3)	1		1	
3435TT	1 (3.3)	23 (21.7)	0.12 (0.02-0.96)	0.046	0.10 (0.01-0.84)	0.034
2677GG	9 (30.0)	21 (19.8)	1		1	
2677G (T or A)	17 (56.7)	50 (47.2)	0.79 (0.31-2.06)	0.635	0.81 (0.28-2.29)	0.685
2677 (T or A) (T or A)	4 (13.3)	35 (33.0)	0.27 (0.07-0.98)	0.046	0.26 (0.06-1.03)	0.056
			Trend: p = 0.045		Trend: p = 0.056	
2677GG or G (T or A)	26 (19.1)	71 (52.2)	1		1	
2677 (T or A) (T or A)	4 (2.9)	35 (25.7)	0.31 (0.10-0.96)	0.043	0.30 (0.09-0.98)	0.046
*This model includes all the variables in table. 3435CC: 野生型ホモ接合体. 3435CT: ヘテロ接合体. 3435TT:変異型ホモ接合体. 2677GG: 野生型ホモ接合体. 2677G (T or A): ヘテロ接合体. 2677 (T or A) (T or A): 変異型ホモ接合体						

D. 考察

われわれは、ステロイド感受性に影響する可能性のある薬物輸送タンパクP-gpの機能がステロイドの体内動態に影響を与え、ION発生に関与するという仮説をたて、検討を行った。現在までにP-gpをコードするABCB1には多くのSNPの報告があるが、その中でもexon26に存在するC3435Tが機能的なSNPとして注目され、さまざまな疾患との関連が報告されている⁶⁾。本検討でわれわれはABCB1C3435TとION発生について重要な事実を明らかにすることができた。TABLE2に示したようにION発生の危険性は多変量解析で3435CCと比較して3435TTで統計学的有意に減少しており、TTの遺伝子型は独立した因子として腎移植後のステロイド性ION発生の頻度を下げていることが判明した。本検討は、ステロイド性IONの発生に薬物輸送蛋白であるP-gpが関与していることを示した世界で最初の報告である。

しかし、C3435Tはアミノ酸置換を伴わず、プロモータ領域のSNPでもないため、遺伝子の機能や発現量に影響を与えるとは考えにくい。そこで近年注目されているのが、C3435Tと連鎖不均衡状態にあり、アミノ酸置換を伴うSNPであるG2677T/Aである¹⁰⁾。本検討ではG2677T/AとION発生についても検討を加えた。その結果、C3435Tと同様に、変異型ホモ接合体でION発生リスクが減少を認めた(table2、Adjusted OR=0.26、95% CI: 0.06-1.03、p=0.056)。

ABCB1 C3435Tの表現型に関しては一致した見解は得られていないが^{7,11-14)}、本検討では3435TTでIONリスクが減少した。その理由として、ステロイド性IONがステロイドあるいはステロイド代謝産物の体内への蓄積で起こりやすくなると仮定すれば、P-gpの機能が上昇すると、その結果細胞内へのステロイドあるいはステロイド代謝産物の蓄積が緩和されることによってION発生が抑制される可能性を考えた。今後、ABCB1 C3435Tの表現型を解析すれば、ION発生の病態解明に役立つ可能性がある。

E. 結論

本検討から、ステロイド性ION発生に輸送タンパクP-gpが関与している可能性が判明した。ステロイド投与前からABCB1の遺伝子型を検査することは、ION発生予測に有用と考えた。

F. 参考文献

- 1) Cruess RL. Osteonecrosis of bone: current concepts as to etiology and pathogenesis. *Clin Orthop* 1986;208:30-9.
- 2) Hirota Y, Hirohata T, Fukuda K, et al. Association of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status with the risk of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Am J Epidemiol* 1993;137:530-8.
- 3) Kubo T, Fujioka M, Yamazoe S, et al. Relationship between steroid dosage and osteonecrosis of the femoral head after renal transplantation on magnetic resonance imaging. *Transplant Proc* 1998;30:3039-40.
- 4) Ambudkar SV, Dey S, Hrycyna CA, Ramachandra M, Pastan I, Gottesman MM. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999;39:361-98.
- 5) Karssen AM, Meijer OC, van der Sandt IC, De Boer AG, De Lange EC, De Kloet ER. The role of the efflux transporter P-glycoprotein in brain penetration of prednisolone. *J Endocrinol* 2002; 175: 251-60.
- 6) Sakaeda T, Nakamura T, Okumura K. MDR1 genotype-related pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Biol Pharm Bull* 2002; 25: 1391-400.
- 7) Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:3473-8.
- 8) Ono K. Diagnostic criteria, typing, and staging of avascular necrosis of the femoral head. In: Ono K, ed. Annual report of the idiopathic avascular necrosis of the femoral head research committee (In Japanese). Tokyo: Ministry of Health and Welfare of Japan, 1986: 330-6.
- 9) Tang K, Ngoi SM, Gwee PC et al. Distinct haplotype profiles and strong linkage disequilibrium at the MDR1 multidrug transporter gene locus in three ethnic Asian populations. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 437-50.
- 10) Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori Y, et al. Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 297: 1137-43.
- 11) Hitzl M, Drescher S, van der Kuip H et al. The

C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics* 2001 ; 11: 293-8.

- 12) Kim RB, Leake BF, Choo EF, et al. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 70: 189-99.
- 13) Sakaeda T, Nakamura T, Horinouchi M et al. MDR1 genotype-related pharmacokinetics of digoxin after single oral administration in healthy Japanese subjects. *Pharm Res* 2001; 18: 1400-4.
- 14) Fellay J, Marzolini C, Meaden ER et al. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet* 2002; 359:30-6.

G. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 久保俊一：骨における血行とその障害、TAISHO Medical Symposium、大阪、2002.3.16.
- 2) 久保俊一：骨の循環と骨壊死症、大阪臨床整形外科医会、大阪、2002. 7. 13.
- 3) 久保俊一：大腿骨頭壊死症の診断と治療、第32回南大阪リウマチ・関節外科研究会、大阪、2002. 7. 27.
- 4) 久保俊一：骨髄浮腫をおこす股関節疾患の鑑別、和歌山整形外科学術講演会、和歌山、2002. 9. 14.
- 5) 久保俊一：Steroidと骨、第21回腎と骨代謝研究会学術集会、東京、2001. 9. 22.
- 6) 久保俊一：骨壊死症の臨床、富山県整形外科医会講演会、富山、2002. 10. 4.
- 7) 久保俊一：股関節疾患の鑑別診断－骨壊死症と周辺疾患－、京都北部整形外科医会記念講演、京都、2002. 10. 17.
- 8) 浅野武志、久保俊一：腎移植後大腿骨頭壊死症の遺伝子解析－チトクロームP450を対象にして－、第17回日本整形外科学基礎学術集会、青森、2002. 10. 11.
- 9) 浅野武志、高橋謙治、藤岡幹浩、井上重洋、柴谷匡彦、濱口裕之、西野輔翼、久保俊一：ステロイド性大腿骨頭壊死症の遺伝子解析、第29回日本股関節学会学術集会、札幌、2002. 9. 12.
- 10) 浅野武志、高橋謙治、藤岡幹浩、井上重洋、久保俊一：腎移植後大腿骨頭壊死症の遺伝子解析－チトクロームP450を対象にして－、第99回中部日本整形外科学会災害外科学会、倉敷、2002. 10. 31.
- 11) 久保俊一：ステロイド骨壊死症の病態と予防、第20回四国関節外科研究会、徳島、2003. 3. 8.
- 12) 久保俊一：骨壊死症の診断と遺伝子解析、第22回滋賀県臨床整形外科医会総会・学術講演会、滋賀、2003. 3. 22.
- 13) 久保俊一：ステロイド性骨壊死症の病態、MOC会 Monthly Orthopaedic Conference、福岡、2003. 3. 24.
- 14) 久保俊一：ステロイド性大腿骨頭壊死症の治療と予防、第10回奈良県骨・関節研究会、奈良、2003. 4. 5.
- 15) 久保俊一：腿骨頭壊死症の新しい知見－現状と展望－、第4回長崎関節外科懇話会、長崎、2003. 6. 3.
- 16) 久保俊一：ステロイド性骨壊死症の予防、大阪医科大学整形外科学教室同門会教育研修会、大阪、2003. 9. 6.
- 17) 久保俊一：ステロイド性骨壊死症診療の要点、第17回瑞穂卒後研修セミナー、名古屋、2003. 9. 12.
- 18) 浅野武志、高橋謙治、藤岡幹浩、久保俊一：ステロイド性大腿骨頭壊死症の遺伝子解析－Tailor-made Medicineの確立に向けて－、第18回日本整形外科学会基礎学術集会、北九州、2003.10.16.
- 19) 浅野武志、高橋謙治、藤岡幹浩、井上重洋、山添勝一、平田哲朗、西野輔翼、久保俊一：ステロイド性大腿骨頭壊死症の遺伝子解析－薬物輸送蛋白を対象として－、第30回日本股関節学会学術集会、東京、2003. 10. 30.
- 20) 上島圭一郎、藤岡幹浩、高橋謙治、浅野武志、井上重洋、岡本雅彦、杉岡信行、久保俊一：腎移植患者における大腿骨頭壊死症発生とタクロリムスの生体内利用率の関連について、第30回日本股関節学会学術集会、東京、2003. 10. 30.

2. 論文発表

- 1) Asano T, Takahashi KA, Fujioka M, Inoue S, Ueshima K, Hirata T, Okamoto M, Satomi Y, Nishino H, Tanaka T, Hirota Y and Kubo T, Relationship between post-renal-transplant osteonecrosis of the femoral head and gene polymorphisms related to coagulation and fibrinolytic system in Japanese Transplantation In press.
- 2) Asano T, Takahashi KA, Fujioka M, Inoue S, Okamoto M, Sugioka N, Nishino H, Tanaka T, Hirota

- Y and Kubo T, ABCB1 C3435T and G2677T/A polymorphism decreased the risk for steroid-induced osteonecrosis of the femoral head after kidney transplantation *Pharmacogenetics* 2003 13:675-682.
- 3) Inoue S, Horii M, Suehara H, Ueshima K, Shiga T, Fujioka M, Takahashi K, Asano T, Kim W and Kubo T, Minimum 10-year radiographic follow-up of a cementless acetabular component for primary total hip arthroplasty with a bulk autograft *J Orthop Sci* 2003 8(5):664-668.
 - 4) Kishida T, Asada H, Gojo S, Ohashi S, Shin-Ya M, Yasutomi K, Terauchi R, Takahashi KA, Kubo T, Imanishi J and Mazda O, Sequence-specific Gene Silencing in Murine Muscle Induced by Electroporation-mediated Transfer of Short Interfering RNA *J Gene Med* In press.
 - 5) Asano T, Takahashi K, Fujioka M, Inoue S, Satomi Y, Nishino H, Tanaka T, Hirota Y, Takaoka K, Nakajima S and Kubo T, Genetic analysis of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head *J Orthop Sci* 2003 8:329-333.
 - 6) Terauchi R, Takahashi KA, Arai Y, Ikeda T, Ohashi S, Imanishi J, Mazda O and Kubo T, Hsp70 prevents nitric oxide-induced apoptosis in articular chondrocytes *Arthritis Rheum* 2003 48:1562-1568.
 - 7) Horii M, Kubo T, Inoue S and Kim W, Coverage of the femoral head by the acetabular labrum in dysplastic hips: quantitative analysis with radial MR imaging *Acta Orthop Scand* 2003 74(3):287-292.
 - 8) Ohashi S, Kubo T, Kishida T, Ikeda T, Takahashi K, Arai Y, Terauchi R, Asada H, Imanishi J and Mazda O, Successful genetic transduction in vivo into synovium by means of electroporation *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2002 293: 1530-1535.
 - 9) Tomioka M, Sameshima M, Nakano H, Kubo T, Shinohara K, Seyama Y, Kawashima S and Tone S, A possible intermediate step during apoptotic execution *Human Cell* 2002 15: 43-61.
 - 10) Horii M, Kubo T, Hachiya Y, Nishimura T and Hirasawa Y, Development of the acetabulum and the acetabular labrum in the normal child: analysis with radial sequence imaging *Journal of Pediatric Orthopaedics* 2002 22:222-227.
 - 11) Kubo T, Arai Y, Takahashi K, Ikeda T, Ohashi S, Kitajima I, Mazda O, Takigawa M, Imanishi J and Hirasawa Y, Expression of transduced HSP70 gene protects chondrocytes from stress *J Rheumatol* 2001 28: 330-335.
 - 12) Kubota T, Ushijima Y, Okuyama C, Kubo T and Nishimura T, Tracer accumulation in femoral head during early phase of bone scintigraphy after renal transplantation *J Nucl Med*. 2001 42:1789-94.
 - 13) Kubo T, Kimori K, Nakamura F, Inoue S, Fujioka M, Ueshima K, Hirasawa Y, Ushijima Y and Nishimura T, Blood flow and blood volume in the femoral heads of healthy adults according to age: measurement with positron emission tomography (PET) *Ann Nucl Med* 2001 15: 231-235.
 - 14) Kubo T, Kojima A, Yamazoe S, Ueshima K, Yamamoto T and Hirasawa Y, Osteonecrosis of the femoral head that developed after long-term topical steroid application *J Ortho Sci* 2001 6:92-94.
 - 15) Kubo T, Kitajima I, Makinodan A, Niratsuka S, Inoue S, Otsuka G, Ohashi S, Ueshima K and Hirasawa Y, Fibrin monomer could be a useful predictor of pulmonary embolism after total hip arthroplasty: preliminary report *J Ortho Sci* 2001 6:119-122.
 - 16) Kubo T, Arai Y, Namie K, Takahashi K, Hojo T, Inoue S, Ueshima K, Shiga T, Yutani Y and Hirasawa Y, Time-sequential changes in biomechanical and morphological properties of articular cartilage in cryopreserved osteochondral allografting *J Ortho Sci* 2001 6:276-281.
 - 17) Ohashi S, Kubo T, Ikeda T, Arai Y, Takahashi K, Hirasawa Y, Takigawa M, Satoh E, Imanishi J and Mazda O, Cationic polymer-mediated genetic transduction into cultured human chondrosarcoma-derived HCS-2/8 cells *J Ortho Sci* 2001 6:75-81.
 - 18) Fujioka M, Kubo T, Nakamura F, Shibata M, Ueshima K, Hamaguchi H, Inoue S, Sugano N, Sakai T, Torii Y, Hasegawa Y and Hirasawa Y, Initial changes of non-traumatic osteonecrosis of femoral head in fat suppression images: bone marrow edema was not found before the appearance of band patterns *Magn Reson Imaging* 2001 19:985-991.
 - 19) Torii Y, Hasegawa Y, Kubo T, Kodera Y, Minami S, Morishita Y, Yamada Y and Iwata H, Osteonecrosis of

the femoral head after allogeneic bone marrow transplantation Clin Orthop 2001 382:124-132.

- 20) Cui F, Kishida T, Ohashi S, Asada H, Yasutomi K, Satoh E, Jin M, Kubo T, Fushiki S, Imanishi J and Mazda O, Highly efficient gene transfer into murine liver achieved by intravenous administration of naked Epstein-Barr Virus (EBV)-based plasmid vectors Gene Ther 2001 8:1508-1513.
- 21) Kim KJ, Kotake S, Udagawa N, Ida H, Ishii M, Takei I, Kubo T and Takagi M, Oseteoprotegerin inhibits in vitro mouse osteoclast formation induced by joint fluid from failed total hip arthroplasty J Biomed Mater Res 2001 8:393-400.
- 22) Takahashi K, Hashimoto S, Kubo T, Hirasawa Y, Lotz M and Amiel D, Hyaluronan suppressed nitric oxide production in the meniscus and synovium of rabbit osteoarthritis model J Orthop Res 2001 19:500-503.

H. 特許の取得

- 1) 久保俊一、浅野武志、高橋謙治、ステロイド性大腿骨頭壊死症診断遺伝子の塩基多型の検出法
特願 2002-186624

ステロイド性大腿骨頭壊死症と輸送タンパクとの関連

久保 俊一、上島圭一郎、藤岡 幹浩、浅野 武志、高橋 謙治
(京都府立医科大学大学院医学研究科運動器機能再生外科学)
岡本 雅彦、吉村 了勇
(京都府立医科大学大学院医学研究科移植・再生制御外科学)
西田 克次、杉岡 信彦 (京都府立医科大学付属病院薬剤部)

我々は、ステロイド感受性の個体差に影響を与える因子として、薬物の吸収過程に重要である輸送蛋白P-glycoprotein (P-gp) をコードするABCB1 (別名multidrug resistance gene 1; MDR1) の一塩基変異多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) に着目し検討した結果、ABCB1 C3435Tおよびそれと連鎖不均衡状態にあるG2677T/Aの変異型ホモ接合体で特発性大腿骨頭壊死症 (Idiopathic osteonecrosis of the femoral head; ION) 発生率が減少することを報告した。本研究の目的はP-gpの特異的基質であることが報告されているtacrolimusの体内動態を指標に、ABCB1 C3435TがP-gpの機能に与える影響を生体内で検討することである。さらにION発生例と非発生例とでP-gpの機能を比較することである。移植後の患者のtacrolimus投与量/trough level比 (dose /concentration ratio of tacrolimus、D/C ratio) から、ABCB1 C3435Tの各遺伝子型ならびに、ION発生群・非発生群におけるP-gpの機能を検討した。ABCB1 3435TTの遺伝子型を有する患者では、D/C ratioがCCと比較して統計学的有意に上昇していた。また、ION発生群ではD/C ratioが非発生群と比較して有意に低下していた。3435 TTではP-gpの機能がCCと比較して上昇した結果、標的細胞内のステロイド蓄積が緩和されION発生が減少していると考えた。またION発生例では何らかの原因によりP-gpの機能が低下していることが判明した。

A. 研究目的

特発性大腿骨頭壊死症 (Idiopathic osteonecrosis of the femoral head; ION) は大腿骨頭の無菌性、阻血性壊死をきたす疾患である。壊死範囲が大きい場合、荷重負荷により大腿骨頭圧潰が生じ日常生活は制限される。また、IONは青壮年期に好発し、骨頭温存が困難なことも多い。発症のメカニズムは不明であるが、ステロイド投与が危険因子の一つであることが判明している^{1,2)}。ステロイド性IONはステロイド投与に伴う合併症と位置付けられることから、予防法開発が社会的急務である。現在までの腎移植患者を対象にした本研究班の研究から、IONはステロイド投与後12週以内という早期におこることが判明している³⁾。そのため、ステロイド投与前からリスク患者をスクリーニングすることが予防法を考えるうえで重要である。一方、日常臨床において、移植後など、投与量および投与方法を含むステロイド投

与プロトコールがほぼ同一であるにもかかわらず、IONの発生について必ずしも同じ経過をたどらないことを経験する。これは、ステロイドに対する感受性に個体差が存在することを示唆している⁴⁾。ステロイド感受性の個体差の原因としては、ステロイド代謝酵素の遺伝子多型、ステロイド受容体遺伝子多型および輸送タンパクなどの遺伝子多型が考えられる。

われわれは以前に輸送タンパク (P-glycoprotein; P-gp) に着目し、ABCB1 (別名multidrug resistance gene 1; MDR1) の一塩基変異多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) であるexon26 (C3435T) およびそれと連鎖不均衡状態にあるexon21 (G2677T/A) の変異型ホモ接合体により腎移植後のステロイド性IONの発生が減少することを報告した。本研究の目的はP-gpの特異的基質であることが報告されているtacrolimusの体内動態を指標に、ABCB1 C3435TがP-gpの機能に与える影響を生体内で検討することである。

さらにION発生例と非発生例とでP-gpの機能を比較することである。

B. 研究方法

P-gpの機能を生体内で評価するために、患者の体重で補正したtacrolimus dose / concentration ratio (D/C ratio) を算出した。doseは目標trough level (10~15ng/ml) を達成している時の平均投与量として評価した。すなわちD/C ratioが高値であるほどtacrolimusの血中からの消失が大きい吸収量が少ないことを意味し、P-gpの機能が低いことを示している。併用薬の種類やその減量等は術後の経過によって決定されていることから、D/C ratioの算出では同じ時期で比較する必要があると考えた。したがってD/C ratioの検討対象は、術後の免疫抑制療法にtacrolimusを使用した患者65名のうち、各患者の術後14日から21日の7日間において、tacrolimusの目標trough levelである10~15ng/mlを達成できた症例42例とした (ION発生群：6例、非発生群：36例)。

さらにABCB1 C3435Tのそれぞれの遺伝子型でのtacrolimusのD/C ratioを算出した (CC；10例、CT；13例、TT；6例)。

なおtrough levelは投与量変更後3日以上経過しているもの (定常状態) を用いた。また全血中tacrolimus濃度はAbbott IMX Tacrolimus system kit (Abbott Laboratories, Chicago, Illinois, USA) を用いMicroparticle Enzyme Immunoassayで測定した。

C. 研究結果

図1にABCB1 C3435Tの遺伝子型のD/C ratioを示す。3435TTで 0.265 ± 0.013 (mg/kg) と最も高く、3435CC (0.215 ± 0.021) に対し有意差を認めた ($P < 0.01$, t-test)。つまり、3435TTではその他の遺伝子型と比較してP-gpの機能が有意に高いことが示された。

図2にION発生群と非発生群のD/C ratioを示す。ION発生群ではD/C ratioは 0.229 ± 0.032 であり、非発生群の 0.268 ± 0.019 と比較して有意に低い値であった ($P < 0.01$, t-test)。このことはION発生群ではP-gpの機能が有意に低いことを示す。

以上の結果からステロイド性IONは3435TTでP-gpの機能が低い症例で極めて発生しにくいことが判明した。

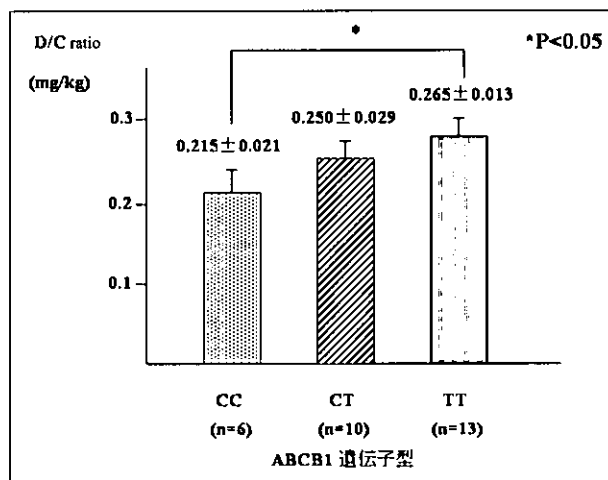


図1. ABCB1各遺伝子型とD/C ratio

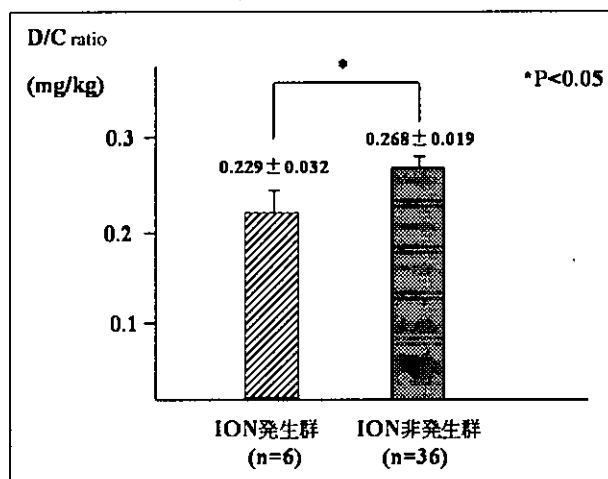


図2. ION発生とD/C ratio

D. 考察

ほぼ同一のプロトコルでステロイド投与を受けたにもかかわらず、IONを発生する例としない例が存在する。このことはステロイド感受性の個体差が存在することを示している⁴⁾。この個体差にはステロイド代謝、ステロイド受容体あるいは薬物輸送に関連する分子の多型が関与すると考えられる。以前にわれわれはION発生がABCB1 3435TT (変異型ホモ接合体) で減少している可能性を報告した。その理由として、P-gpの機能が上昇すると、その結果細胞内へのステロイドあるいはステロイド代謝産物の蓄積が緩和されることによってION発生が抑制される可能性を考えた。しかし、現在までにABCB1 3435TTの表現型の報告は多数存在するものの一致した見解は得られていない⁵⁻⁹⁾。そこで、われわれは、生体内でABCB1 C3435TがP-gpの機能に与える影響を決定しようと試みた。

近年、腎移植後にステロイドと併用される免疫抑制剤として calcineurin inhibitor である tacrolimus が広く用いられている。tacrolimus は小腸上部の上皮細胞から吸収される。この吸収過程には、小腸上皮細胞に存在する代謝酵素 cytochrome (CYP) 3A4 と輸送蛋白 P-gp が関与している¹⁰⁾。tacrolimus の D/C ratio を評価することにより、P-gp の機能を評価できることが報告されている¹¹⁻¹³⁾。本検討で 3435TT では 3435CC と比較して tacrolimus の D/C ratio が有意に上昇していた。つまり、3435TT では P-gp の機能が 3435CC と比較して上昇していることが示された。

さらに ION 発症例では、非発症例と比較して tacrolimus の D/C ratio が有意に低下していた。このことから、ION 発症例では P-gp のポンプ能が低下していることが判明した。小腸上皮での P-gp の機能低下による吸収過程の増強から、細胞内ステロイド濃度が上昇し、このことがステロイド性 ION 発症の素地を作っていると考えた。

本検討で 3435TT の遺伝子型を有するにもかかわらず、ION を発症した 1 名の患者が存在する。この患者の D/C ratio は 0.239 mg/kg と 3435TT の症例 (平均 0.265 ± 0.013) の中では最も低い値を示した。この症例は 3435TT の遺伝子型を持つにもかかわらず、何らかの理由で P-gp の機能が高くないため ION が発症したと考えられる。

本研究の結果は P-gp の機能が低い症例 (3435CC) の中に ION を発症する症例としない症例が存在することも示している。環境因子も含めた他の要因が ION 発症患者に存在する可能性があり、今後の検討課題である。

E. 結論

本検討から、ステロイド性 ION 発症に輸送タンパク P-gp が関与している可能性が強く示唆された。ステロイド投与前から ABCB1 の遺伝子型を検査し、さらに P-gp の機能を評価することは、ION 発症予測に有用と考えた。

F. 参考文献

- 1) Cruess RL. Osteonecrosis of bone: current concepts as to etiology and pathogenesis. *Clin Orthop* 1986;208:30-9.
- 2) Hirota Y, Hirohata T, Fukuda K, et al. Association of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status with the risk of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Am J Epidemiol* 1993;137:530-8.
- 3) Kubo T, Yamazoe S, Sugano N, et al. Initial MRI findings of non-traumatic osteonecrosis of the femoral head in renal allograft recipients. *Magn Reson Imaging* 1997;15:1017-23.
- 4) Kubo T, Fujioka M, Yamazoe S, et al. Relationship between steroid dosage and osteonecrosis of the femoral head after renal transplantation on magnetic resonance imaging. *Transplant Proc* 1998;30:3039-40.
- 5) Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:3473-8.
- 6) Hitzl M, Drescher S, van der Kuip H et al. The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 293-8.
- 7) Kim RB, Leake BF, Choo EF, et al. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 70: 189-99.
- 8) Sakaeda T, Nakamura T, Horinouchi M et al. MDR1 genotype-related pharmacokinetics of digoxin after single oral administration in healthy Japanese subjects. *Pharm Res* 2001; 18: 1400-4.
- 9) Fellay J, Marzolini C, Meaden ER et al. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet* 2002; 359:30-6.
- 10) Christians U, Jacobsen W, Benet LZ, Lampen A. Mechanisms of clinically relevant drug interactions associated with tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 2002; 41: 813-51.
- 11) Yokogawa K, Takahashi M, Tamai I et al. P-glycoprotein-dependent disposition kinetics of tacrolimus: studies in mdrla knockout mice. *Pharm Res* 1999; 16: 1213-8.
- 12) Hashida T, Masuda S, Uemoto S, Saito H, Tanaka K, Inui K. Pharmacokinetic and prognostic significance of intestinal MDR1 expression in recipients of living-donor liver transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 2001;

69: 308-16.

- 13) Masuda S, Uemoto S, Hashida T, Inomata Y, Tanaka K, Inui K. Effect of intestinal P-glycoprotein on daily tacrolimus trough level in a living-donor small bowel recipient. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68: 98-103.

G. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 久保俊一：骨における血行とその障害、TAISHO MedicalSymposium、大阪、2002.3.16.
- 2) 久保俊一：骨の循環と骨壊死症、大阪臨床整形外科医会、大阪、2002. 7. 13.
- 3) 久保俊一：大腿骨頭壊死症の診断と治療、第32回南大阪リウマチ・関節外科研究会、大阪、2002. 7. 27.
- 4) 久保俊一：骨髄浮腫をおこす股関節疾患の鑑別、和歌山整形外科学術講演会、和歌山、2002. 9. 14.
- 5) 久保俊一：Steroidと骨、第21回腎と骨代謝研究会学術集会、東京、2001. 9. 22.
- 6) 久保俊一：骨壊死症の臨床、富山県整形外科医会講演会、富山、2002. 10. 4.
- 7) 久保俊一：股関節疾患の鑑別診断－骨壊死症と周辺疾患－、京都北部整形外科医会記念講演、京都、2002. 10. 17.
- 8) 浅野武志、久保俊一：腎移植後大腿骨頭壊死症の遺伝子解析－チトクロームP450を対象にして－、第17回日本整形外科基礎学術集会、青森、2002. 10. 11.
- 9) 浅野武志、高橋謙治、藤岡幹浩、井上重洋、柴谷匡彦、濱口裕之、西野輔翼、久保俊一：ステロイド性大腿骨頭壊死症の遺伝子解析、第29回日本股関節学会学術集会、札幌、2002. 9. 12.
- 10) 浅野武志、高橋謙治、藤岡幹浩、井上重洋、久保俊一：腎移植後大腿骨頭壊死症の遺伝子解析－チトクロームP450を対象にして－、第99回中部日本整形外科災害外科学会、倉敷、2002. 10. 31.
- 11) 久保俊一：ステロイド骨壊死症の病態と予防、第20回四国関節外科研究会、徳島、2003. 3. 8.
- 12) 久保俊一：骨壊死症の診断と遺伝子解析、第22回滋賀県臨床整形外科医会総会・学術講演会、滋賀、2003. 3. 22.
- 13) 久保俊一：ステロイド性骨壊死症の病態、MOC会 Monthly Orthopaedic Conference、福岡、2003. 3. 24.
- 14) 久保俊一：ステロイド性大腿骨頭壊死症の治療と予防、第10回奈良県骨・関節研究会、奈良、2003. 4. 5.
- 15) 久保俊一：大腿骨頭壊死症の新しい知見－現状と展望－、第4回長崎関節外科懇話会、長崎、2003. 6. 3.
- 16) 久保俊一：ステロイド性骨壊死症の予防、大阪医科大学整形外科学教室同門会教育研修会、大阪、2003. 9. 6.
- 17) 久保俊一：ステロイド性骨壊死症診療の要点、第17回 瑞穂卒後研修セミナー、名古屋、2003. 9. 12.
- 18) 浅野武志、高橋謙治、藤岡幹浩、久保俊一：ステロイド性大腿骨頭壊死症の遺伝子解析－Tailor-made Medicineの確立に向けて－、第18回日本整形外科学会基礎学術集会、北九州、2003.10.16.
- 19) 浅野武志、高橋謙治、藤岡幹浩、井上重洋、山添勝一、平田哲朗、西野輔翼、久保俊一：ステロイド性大腿骨頭壊死症の遺伝子解析－薬物輸送蛋白を対象として－、第30回日本股関節学会学術集会、東京、2003. 10. 30.
- 20) 上島圭一郎、藤岡幹浩、高橋謙治、浅野武志、井上重洋、岡本雅彦、杉岡信行、久保俊一：腎移植患者における大腿骨頭壊死症発生とタクロリムスの生体内利用率の関連について、第30回日本股関節学会学術集会、東京、2003. 10. 30.

2. 論文発表

- 1) Asano T, Takahashi KA, Fujioka M, Inoue S, Ueshima K, Hirata T, Okamoto M, Satomi Y, Nishino H, Tanaka T, Hirota Y and Kubo T, Relationship between post-renal-transplant osteonecrosis of the femoral head and gene polymorphisms related to coagulation and fibrinolytic system in Japanese Transplantation In press.
- 2) Asano T, Takahashi KA, Fujioka M, Inoue S, Okamoto M, Sugioka N, Nishino H, Tanaka T, Hirota Y and Kubo T, ABCB1 C3435T and G2677T/A polymorphism decreased the risk for steroid-induced osteonecrosis of the femoral head after kidney transplantation *Pharmacogenetics* 2003 13:675-682.
- 3) Inoue S, Horii M, Suehara H, Ueshima K, Shiga T, Fujioka M, Takahashi K, Asano T, Kim W and Kubo T, Minimum 10-year radiographic follow-up of a cementless acetabular component for primary total

- hip arthroplasty with a bulk autograft *J Orthop Sci* 2003 8(5):664-668.
- 4) Kishida T, Asada H, Gojo S, Ohashi S, Shin-Ya M, Yasutomi K, Terauchi R, Takahashi KA, Kubo T, Imanishi J and Mazda O, Sequence-specific Gene Silencing in Murine Muscle Induced by Electroporation-mediated Transfer of Short Interfering RNA *J Gene Med* In press.
 - 5) Asano T, Takahashi K, Fujioka M, Inoue S, Satomi Y, Nishino H, Tanaka T, Hirota Y, Takaoka K, Nakajima S and Kubo T, Genetic analysis of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head *J Orthop Sci* 2003 8:329-333.
 - 6) Terauchi R, Takahashi KA, Arai Y, Ikeda T, Ohashi S, Imanishi J, Mazda O and Kubo T, Hsp70 prevents nitric oxide-induced apoptosis in articular chondrocytes *Arthritis Rheum* 2003 48:1562-1568.
 - 7) Horii M, Kubo T, Inoue S and Kim W, Coverage of the femoral head by the acetabular labrum in dysplastic hips: quantitative analysis with radial MR imaging *Acta Orthop Scand* 2003 74(3):287-292.
 - 8) Ohashi S, Kubo T, Kishida T, Ikeda T, Takahashi K, Arai Y, Terauchi R, Asada H, Imanishi J and Mazda O, Successful genetic transduction in vivo into synovium by means of electroporation *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2002 293: 1530-1535.
 - 9) Tomioka M, Sameshima M, Nakano H, Kubo T, Shinohara K, Seyama Y, Kawashima S and Tone S, A possible intermediate step during apoptotic execution *Human Cell* 2002 15: 43-61.
 - 10) Horii M, Kubo T, Hachiya Y, Nishimura T and Hirasawa Y, Development of the acetabulum and the acetabular labrum in the normal child: analysis with radial sequence imaging *Journal of Pediatric Orthopaedics* 2002 22:222-227.
 - 11) Kubo T, Arai Y, Takahashi K, Ikeda T, Ohashi S, Kitajima I, Mazda O, Takigawa M, Imanishi J and Hirasawa Y, Expression of transduced HSP70 gene protects chondrocytes from stress *J Rheumatol* 2001 28: 330-335.
 - 12) Kubota T, Ushijima Y, Okuyama C, Kubo T and Nishimura T, Tracer accumulation in femoral head during early phase of bone scintigraphy after renal transplantation *J Nucl Med*. 2001 42:1789-94.
 - 13) Kubo T, Kimori K, Nakamura F, Inoue S, Fujioka M, Ueshima K, Hirasawa Y, Ushijima Y and Nishimura T, Blood flow and blood volume in the femoral heads of healthy adults according to age: measurement with positron emission tomography (PET) *Ann Nucl Med* 2001 15: 231-235.
 - 14) Kubo T, Kojima A, Yamazoe S, Ueshima K, Yamamoto T and Hirasawa Y, Osteonecrosis of the femoral head that developed after long-term topical steroid application *J Ortho Sci* 2001 6:92-94.
 - 15) Kubo T, Kitajima I, Makinodan A, Niratsuka S, Inoue S, Otsuka G, Ohashi S, Ueshima K and Hirasawa Y, Fibrin monomer could be a useful predictor of pulmonary embolism after total hip arthroplasty: preliminary report *J Ortho Sci* 2001 6:119-122.
 - 16) Kubo T, Arai Y, Namie K, Takahashi K, Hojo T, Inoue S, Ueshima K, Shiga T, Yutani Y and Hirasawa Y, Time-sequential changes in biomechanical and morphological properties of articular cartilage in cryopreserved osteochondral allografting *J Ortho Sci* 2001 6:276-281.
 - 17) Ohashi S, Kubo T, Ikeda T, Arai Y, Takahashi K, Hirasawa Y, Takigawa M, Satoh E, Imanishi J and Mazda O, Cationic polymer-mediated genetic transduction into cultured human chondrosarcoma-derived HCS-2/8 cells *J Ortho Sci* 2001 6:75-81.
 - 18) Fujioka M, Kubo T, Nakamura F, Shibatani M, Ueshima K, Hamaguchi H, Inoue S, Sugano N, Sakai T, Torii Y, Hasegawa Y and Hirasawa Y, Initial changes of non-traumatic osteonecrosis of femoral head in fat suppression images: bone marrow edema was not found before the appearance of band patterns *Magn Reson Imaging* 2001 19:985-991.
 - 19) Torii Y, Hasegawa Y, Kubo T, Kodera Y, Minami S, Morishita Y, Yamada Y and Iwata H, Osteonecrosis of the femoral head after allogeneic bone marrow transplantation *Clin Orthop* 2001 382:124-132.
 - 20) Cui F, Kishida T, Ohashi S, Asada H, Yasutomi K, Satoh E, Jin M, Kubo T, Fushiki S, Imanishi J and Mazda O, Highly efficient gene transfer into murine liver achieved by intravenous administration of naked Epstein-Barr Virus (EBV)-based plasmid vectors *Gene Ther* 2001 8:1508-1513.

- 21) Kim KJ, Kotake S, Udagawa N, Ida H, Ishii M, Takei I, Kubo T and Takagi M, Oseteoprotegerin inhibits in vitro mouse osteoclast formation induced by joint fluid from failed total hip arthroplasty J Biomed Mater Res 2001 8:393-400.
- 22) Takahashi K, Hashimoto S, Kubo T, Hirasawa Y, Lotz M and Amiel D, Hyaluronan suppressed nitric oxide production in the meniscus and synovium of rabbit osteoarthritis model J Orthop Res 2001 19:500-503.

H. 特許の取得

- 1) 久保俊一、浅野武志、高橋謙治、ステロイド性大腿骨頭壊死症診断遺伝子の塩基多型の検出法
特願 2002-186624

E) 臟器移植

心臓移植患者の大腿骨頭壊死症に関する研究

高尾 正樹、菅野 伸彦、西井 孝
三木 秀宣、小山 毅、吉川 秀樹
(大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学)

心臓移植患者の大腿骨頭壊死症の発症頻度は欧米の報告では3-8%とされているが、本邦では海外渡航例を含めまだ報告がない。臓器移植法が1997年10月に施行され初めての脳死心臓移植が1999年2月に行われ、当大学において現在までに7例の心臓移植が行われた。今回当院にて心臓移植を施行した患者で大腿骨頭壊死症を両側性に発生した症例を経験し、その特徴を非発症例と比較し検討した。

A. 研究目的

1968年に世界で初めて心臓移植が行われ、1975年に心臓移植後に大腿骨頭壊死症が発症した症例をDanzigがはじめて報告したが、その後世界で6万例近く心臓移植が行なわれているが報告例は少なくその発生率をはじめその実態は明らかとはなっていない。本邦でも1997年に臓器移植法が施行され、1999年に初めて脳死心臓移植が行われ2002年までに13例の心臓移植が行われているが、大腿骨頭壊死症の発症例の報告はなかった。今回当院にて心臓移植を施行した後に大腿骨頭壊死症を両側性に発生した症例を経験し、その移植後早期の経過を検討し他の6例の心臓移植症例と比較を行った。

B. 研究方法

当院において脳死心臓移植を施行した7例を対象に術後2w、4w、6w、8wのプレドニゾロン経口投与量、メチルプレドニゾロン静注量を求め、免疫抑制療法、心生検における急性拒絶反応の有無について検討した。また大腿骨頭壊死症例については移植後の凝固系（PT、APTT）、脂質系（T-cho、TG）の変動を最終診察時まで経時的に追跡した。

C. 研究結果

ステロイド投与量については他の無症状の6例と比較し、むしろ大腿骨頭壊死発症例の方が少なく、腎移植例と比較しても投与量としては少ないと考えられた。免疫抑制療法は、いずれもシクロスポリンと

プレドニゾロンとアザチオプリンもしくはミコフェノール酸モフェティルの3剤併用療法が行われていた。治療が必要なGradeⅢ以上の急性拒絶反応は大腿骨頭壊死症非発症例の1例にのみ認められた。

〈症例〉

48才男性、1985年（33才時）に肥大型心筋症と診断され、1997/12/18心臓移植待機目的で当院転院した。2000/4/4には左心補助人工心臓装着術施行され、2000/4/25（48才）に心臓移植が施行された。移植後3年の2003年8月に右股関節痛出現し、単純X線上右大腿骨頭に硬化像を認め、MRI上両側大腿骨頭にband像を認め、右TypeC1、Stage2、左TypeC1、Stage1の大腿骨頭壊死症と診断された。両膝関節、肩関節にはMRI検査上明かな異常は認めなかった。免疫抑制はアザチオプリンとステロイドとシクロスポリンAの3剤併用療法が行われ、メチルプレドニゾロンの大量静注は移植後早期の3日間のみそれぞれ500mg、375mg、20mgの静注が行われ、その後3ヶ月間1日20mgの経口投与にて拒絶反応もなく良好に経過していた。移植後3年の現在まで特に治療を要する拒絶反応はなくステロイド投与量も5mgまで漸減されていた。移植後の凝固系も、PT-INR1.3前後、APTTも30s前後で経過し特に異常を認めず、脂質系も術後6ヶ月前後でT-cho 246mg/dl、TG 181mg/dlと軽度の高脂血症を認めたが、その後抗高脂血症薬内服投与なしに自然軽快した。

D. 考察

心臓移植後の大腿骨頭壊死症の発症率については4例ほど報告があり2.6-8.7%と腎移植患者に比較し、若干少ない発症率が報告されている。しかしMRIでscreeningした報告はなく実際の発生率については未だに不明である。今回の本学での場合、海外渡航例の6例も含めるとその発症率は7.8%であった。しかし全例にはMRIによるscreeningは施行されておらず、今後新規症例を含めMRI等にて精査をおこないその発生率を調査する必要があると考えられた。今回心臓移植後に大腿骨頭壊死症を認めた症例の特徴としては、ステロイド投与量はプレドニゾン経口投与量、メチルプレドニゾン静注量ともに多くなく、移植後凝固系にも異常を認めず、脂質系も移植後6ヶ月前後に軽度の高脂血症を認めたがその後自然軽快し、他の臓器移植症例と比較してもリスクが低いと考えられる症例であった。まだ一例のみであり、心臓移植症例の大腿骨頭壊死症の特徴を捉えるに至らないが、心臓移植症例で術後の経過と骨壊死発生との関連を詳細に調査した報告はなく、今後心臓移植症例が増えるにつれ検討が必要と考えられた。

E. 結論

心臓移植後に大腿骨頭壊死症を発症した症例を経験した。ステロイド投与量は他の症例と比し少なく、凝固系異常もなく、移植後6ヶ月前後に一過性に軽度の高脂血症を認めたがその後自然軽快した。今後、新規症例も含めMRIにてその発生の時期や頻度を調査する必要がある。

F. 参考文献

- 1) Danzig LA et al. Avascular necrosis of the femoral head following cardiac transplantation. Report of case. Clin. Orthop.117:217-20,1976
- 2) Isono SS et al. Total joint arthroplasty for steroid-induced osteonecrosis in cardiac transplant patient. Clin. Orthop. 217:201-8,1987
- 3) Bradbury G et al. Avascular necrosis of bone after cardiac transplantation. J Bone Joint Surg Am 76:1385-88,1994
- 4) Lee AH et al. Osteonecrosis and bone morbidity in cardiac transplant recipients. Am J Med 96:35-41,1994
- 5) Egam B et al. Orthopaedic complications followint

腎移植後に発生した両側大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折と考えられた一例

池村 聡、山本 卓明、本村 悟朗、中島 康晴、
首藤 敏秀、神宮司誠也、岩本 幸英 (九州大学整形外科)

47歳女性、腎移植後1.5ヶ月より両股部痛が出現した。初診時X線上明らかな異常はなく、発症後5週のMRI画像では、T1強調像にて両大腿骨頭軟骨下に中樞凸のlow intensity bandを認めた。また、造影MRIではband及びその中樞部が造影されていた。完全免荷の後、発症後14週より部分荷重開始した。発症後10ヶ月で、MRIのT1強調像で認められていたlow intensity bandはほぼ消失、また両股部痛も治癒した。

A. 研究目的

今回我々は腎移植後に発生した両側大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折と考えられた一例を経験したので報告する。

B. 研究結果

〈症例〉

47歳女性

- ・主訴：両股関節痛
- ・現病歴：H15年1月2日、特に誘因なく左股関節痛出現した。1月5日より同様に誘因なく右股関節痛出現し、1月7日当科受診となった。外傷歴は認めなかった。身長158.0cm、体重46.0kg、BMIは18.4で正常範囲内であった。大腿骨頸部でのBMDは0.799（-0.6SD；T-Score）と骨粗鬆症は認めなかった。
- ・既往歴：H8年慢性腎不全に対して週3回の血液透析導入となった。

H14年7月左腎部、両膝腫瘍状石灰化症を認めた。

H14年11月15日、生体腎移植術施行した。

ステロイドの使用量は腎移植直後にはプレドニン換算で312mgが使用され、以後漸減され、発症時は15mg内服していた。免疫抑制剤としては、CyclosporineとMycophenolate Mofetilが併用されていた（表1）。

・初診時（発症後4日）理学所見：両股関節において安静時痛を認め、scarpa三角の圧痛も認めた。可動域制限は認めなかった。JOA scoreは両股関節ともに27点であった。

・初診時X線所見：両骨頭に明らかな異常所見は認めなかった。Singh's IndexはGradeⅢであった（図1）。

・MRI所見（発症後5週）

T1強調画像冠状断で両側の大腿骨頭軟骨直下に、中樞側に凸で、不規則なギザギザしたlow intensity bandを認めた（図2）。頸軸に平行なスライス（T1

表1. ステロイド使用量の推移

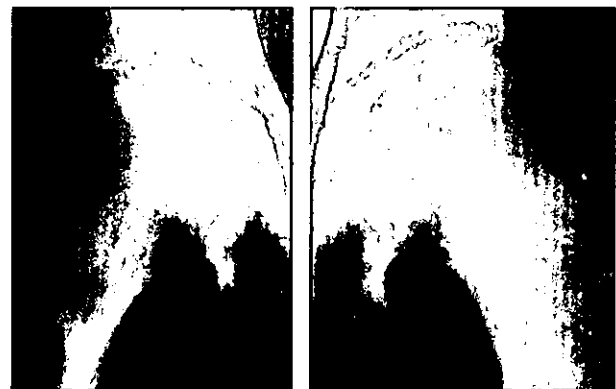
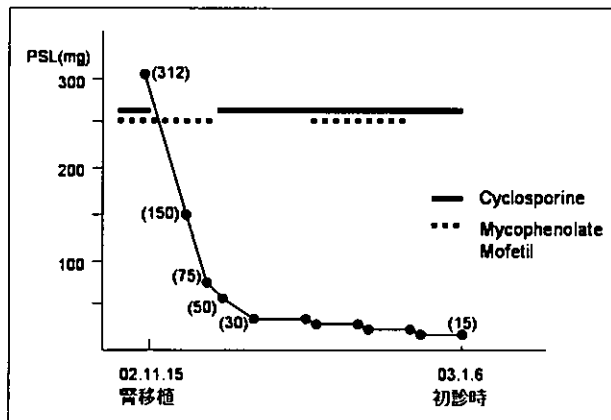


図1



図 2 (a)



図 3

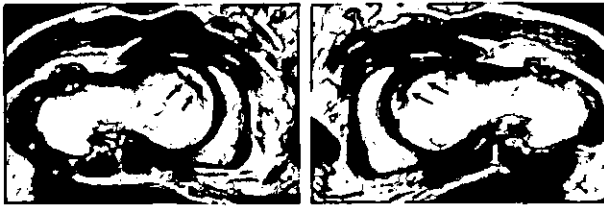


図 2 (b)



図 4

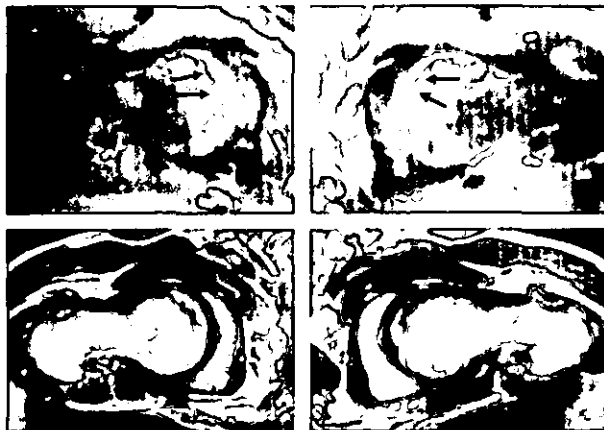


図 2 (c)



図 5

強調画像)では、骨頭前方を中心に軟骨面に対して平行かつ途中で途絶しているlow intensity bandを認めた(図2)。同様のスライスでの造影MRIでは、low intensity band及びその中枢側が造影されていた(図2)。

・臨床経過

X線上圧潰が明らかではなく、またMRI所見より軟骨下骨折の可能性も考えられたため、まずベッド上安静、免荷による保存的治療を選択した。発症後7週のX線像では、両骨頭外側から頂部にかけてMRIのバンド像の認められた部位に一致して不規則な骨硬化像が出現した(図3)。発症後12週のMRIでは、T1強調像にてlow intensity bandの幅が縮小していた(図4)。発症後14週にて、部分荷重を開始した。徐々に

荷重を増やしていき、発症後6ヶ月で全荷重可能となった。発症後10ヶ月のX線像では両骨頭の骨硬化像が消失し、MRIでのT1強調像のlow intensity bandはほぼ消失した(図5)。歩行時の両股部痛も消失し、JOA scoreは右79点と左84点に改善した。

〈考察〉

本症例は、比較的若年の女性であること、腎移植後でかつステロイド治療歴を有すること、両側発生例であること等により、大腿骨頭壊死症との鑑別が最も重要となる。今回認められた特徴的所見としては、MRIのT1強調像でのlow intensity bandが不規則かつ蛇行・途絶していること、造影MRIでlow intensity band及びその中枢部が造影されていること、腎臓移植後8

週と極めて早期に発症していること、X線上圧潰所見や帯状硬化像の形成がはっきりしないこと、等であり、これらは何れも大腿骨頭壊死症としては典型的ではない。腎臓移植後に大腿骨頭のみならず膝関節や足関節に脆弱性骨折が発生することは既に報告されており¹⁾、上記の所見により軟骨下脆弱性骨折を疑い、免荷による保存的治療により画像所見及び臨床症状共に改善した症例であった。

これまで報告されている大腿骨頭壊死と脆弱性骨折の鑑別点としては、何よりもまず脆弱性骨折は大腿骨頭壊死症に比べ高齢女性に多く、骨粗鬆症の合併が多いことである。また、両側発生例は脆弱性骨折では稀であるが、大腿骨頭壊死症では50~70%と高頻度である。また、画像所見ではMRIT1強調像においてlow intensity bandは両疾患ともに認められるが、その形態に特徴があり、脆弱性骨折の場合ではバンド像は骨折線を反映しているため、中樞側に凸で、不規則かつ蛇行・途絶する傾向があり、さらに造影MRIにおいてはバンド像およびそれより中樞部が造影される場合がある点が特徴的所見として報告されている¹⁻⁴⁾。

今回の症例ではBMDはほぼ正常範囲であり、骨粗鬆症の存在が大腿骨において確認されていない。この点が脆弱性骨折とするには矛盾する点であるが、BMDは骨折の発生した大腿骨頭の軟骨直下を測定できていない点、また慢性腎不全においては活性化型ビタミンDの活性化障害、リンの排泄障害に上皮小体ホルモン（PTH）に対する反応性の低下や、PTHの分解の低下などが加わり高P低Ca血症となり、骨粗鬆症化を引き起こす傾向にあるとされている。本症例では長年にわたる慢性腎不全による骨代謝障害に加えて、腎移植後のステロイド、免疫抑制剤の使用による二次性骨粗鬆症が加わり、大腿骨頭に脆弱性が生じたと推測された。更に腫瘍状石灰化症の既往があることから骨代謝に大きな異常をきたしていたことも骨の脆弱化に関連があると考えられた。しかしながら、比較的若年の女性に明らかな外傷もなく、果たして両側の大腿骨頭軟骨下に骨折を来し得るのか否かは、今後の検討を要する。

C. 結論

腎移植後に発生し、保存的治療により治癒した両側大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折と考えられた症例を報告した。

D. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

E. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

F. 参考文献

- 1) Vande Berg B, et al. Transient epiphyseal lesions in renal transplant recipients: presumed insufficiency stress fractures. *Radiology* 1994;191:403-407
- 2) Rafii M, et al. Insufficiency fracture of the femoral head:MR Imaging in three patients. *AJR*,1997;168:159-163
- 3) Yamamoto T, et al. Subchondral insufficiency fracture of the femoral head.A differential diagnosis in actue of coxarthrosis in the elderly. *Arthritis Rheum* 1999;42:2719-2723
- 4) Yamamoto T, et al. Subchondral insufficiency fracture of the femoral head. Histopathologic correlation with MRI. *Skeletal Radiol* 2001;30: 247-254

日本人における腎移植後大腿骨頭壊死症と 凝固・線溶系関連遺伝子多型の検討

久保 俊一、浅野 武志、高橋 謙治、藤岡 幹浩、井上 重洋
平田 哲朗、石田 雅史

(京都府立医科大学大学院医学研究科運動器機能再生外科学)

里見 佳子、西野 輔翼 (京都府立医科大学大学院医学研究科分子生化学)

高岡 邦夫 (大阪市立大学大学院医学研究科整形外科学)

田中 隆、廣田 良夫 (大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学)

中島 滋郎 (大阪大学大学院医学系研究科生体統合医学小児発達医学講座)

临床上使用されるステロイド剤の合併症の一つに大腿骨頭壊死症 (Idiopathic osteonecrosis of the femoral head; ION) がある。ステロイド性IONの病態に凝固・線溶系の異常が存在することが現在までの研究で明らかになっている。われわれは、線溶系を制御する主要な蛋白であるPlasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) の遺伝子多型、ならびに血管内皮細胞障害にかかわるホモシステインの血漿濃度に関与する5、10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) の遺伝子多型とION発生との関連を日本人集団を対象に検討した。一部の症例で定常状態でのPAI-1血漿濃度およびホモシステイン血漿濃度を測定した。PAI-1血漿濃度はPAI-1 4G/4G、4G/5G、5G/5Gの順に低値となり、有意差を認めた。ホモシステイン血漿濃度はMTHFR677 TT、CT、CCの順に高かった。しかし、PAI-14G/5GおよびMTHFR C677Tと腎移植後ION発生との関連は認められなかった。定常状態でのPAI-1およびホモシステイン血漿濃度とION発生との関連も認めなかった。

A. 研究目的

特発性大腿骨頭壊死 (Idiopathic osteonecrosis of the femoral head; ION) の病態についてはいまだ明らかではないが、基礎疾患治療のために使用されるステロイド剤が危険因子であることが知られている^{1,2)}。ステロイドが原因でおこるIONの病態については諸説があるが、最終的には大腿骨内で虚血性変化が生じ、骨壊死が発生すると考えられている³⁾。現在までの研究から、ION発生に、凝固・線溶系の異常が関与していることが明らかになっている⁴⁻⁶⁾。

Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) は凝固・線溶系のバランスを調節する主要な因子であり、tissue-type plasminogen inhibitorやurokinaseの活性を抑制する。PAI-1血漿濃度の高値は冠動脈疾患をはじめとした血栓性疾患の危険因子となることが報告されている⁷⁾。PAI-1血漿濃度高値と相関する遺伝子多型として近年 PAI-1 遺伝子のプロモータ領域に存在

するPAI-14G/5Gが報告された⁸⁾。4G/4Gでは5G/5Gと比較して、PAI-1血漿濃度が上昇することが示されている⁸⁾。最近GlueckらやFerrariらは白人を対象としてION発生とPAI-14G/5G多型について解析し、4G/4GでION発症・発生が高頻度に見られたと報告している⁹⁻¹¹⁾。

一方、近年動脈硬化性疾患や血栓性疾患の独立した危険因子として、高ホモシステイン血症が注目されている¹²⁾。ホモシステインは必須アミノ酸であるメチオニンが代謝を受けて生成されるアミノ酸である。ホモシステインの血栓性疾患への作用機序は完全には解明されていない。しかし、現在までの研究で、ホモシステインは、血管内皮細胞傷害、血管平滑筋細胞増殖、および血管壁での凝固活性促進により、血栓性の病変形成に関与すると考えられている¹³⁻¹⁵⁾。ホモシステイン血漿濃度高値に関与する遺伝子多型としてホモシステインの再メチル化に関

与する酵素である5、10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T (Alanine→Valine) が報告されている¹⁶⁾。MTHFR C677Tと心筋梗塞、脳硬塞などの血栓性疾患との関連があるとする報告は多い¹⁷⁻¹⁹⁾。現在までにMTHFR C677TとION発生について主に白人を対象として解析され関連があると報告されている^{10,11,20)}。しかし、日本人をはじめとしたアジア人種での報告はない。そこでわれわれは、PAI-14G/5GおよびMTHFR C677Tと日本人における腎移植後ION発生について解析した。さらに、定常状態でのPAI-1およびホモシステイン血漿濃度との関連についても調査し、ION発生予測に応用可能かどうかを検討した。

B. 研究方法

〈研究デザイン〉

京都府立医科大学附属病院で施行された腎移植患者で、移植後にION発生が確認され、定期的に当院に通院している31例のION患者を症例とし、移植後2年以上経過例で定期的に単純X線写真、磁気共鳴画像法(MRI)、骨シンチグラフィーで大関節に骨壊死が発生していないことを確認している患者106例を対照とした。IONの診断基準には厚生省の診断基準を用いた²¹⁾。

なお以下の患者は除外した。1) 移植腎の機能が廃絶し、透析にいたっている患者 2) 移植前からION発生が確認された患者 3) MRIによる信号強度の変化は示すものの、診断基準(T1強調画像における大腿骨頭内帯状低信号像)に合致しない非典型的なMRI像を示す患者 4) 臼蓋形成不全や変形性股関節症など移植前から股関節疾患を有する患者 5) 研究に対する同意が得られなかった患者

〈PAI-1 4G/5G, MTHFR C677Tの遺伝子型決定〉

同意を得た患者の末梢血より、ゲノムDNAをDNeasy™Tissue Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)を用いて抽出した。PCRに用いたプライマーはPAI-1 4G/5Gに対して5'-TCCAACCTCAGCCAGACAAG-3'、5'-AGCCACGTGATTGTCTAGGT-3'であり、MTHFR C677Tに対して5'-GAGCTTTGAGGCTGACCTGA-3'、5'-CCCTCACCTGGATGGGAAAG-3'である。PCR条件は94℃5分の熱変性の後、94℃1分の熱変性、58℃1分のannealing、72℃1分の伸長反応を1サイクルとして35サイクルおこなった。ABI PRISM377シークエンサー(Applied Biosystems, PerkinElmer, Inc., MA)

を用い、塩基配列決定をおこなった。

〈臨床情報〉

PAI-1 4G/5G、MTHFR C677Tの遺伝子型のほかに、性別、移植時年齢、移植腎の種別(生体腎あるいは死体腎)、急性拒絶反応の有無、移植後に用いた免疫抑制剤の種類(Cyclosporin、Tacrolimus)、ステロイド投与プロトコールについての情報を収集した。当院ではCyclosporinを1982年から導入し、それによりステロイド投与量を大幅に減量することができた。また1996年から、さらにステロイド投与量を減量するプロトコールを導入している。本検討ではCyclosporin導入後の2つのプロトコール別に患者を分類した。

〈PAI-1およびホモシステイン血漿濃度の測定〉

PAI-1およびホモシステイン血漿濃度の測定を88例(PAI-15G/5G:11例、4G/5G:47例、4G/4G:30例、MTHFR677CC:33例、CT:41例、TT:14例、ION発生群:19例、ION非発生群:69例)に施行した。測定時期は腎移植後平均60ヵ月(3ヵ月-216ヵ月)であった。

〈統計解析〉

統計解析には、unconditional logistic regression model (SAS software ver 8.2)を用いた。PAI-1 4G/5G、MTHFR C677Tの遺伝子型とION発生との関連をodds ratio (OR) および、95%信頼区間 (CI) を算出することから評価した。

さらに性別、移植時年齢、移植腎の種類(生体腎、死体腎)、移植後のステロイドのパルス療法の有無およびステロイド投与プロトコール(少量、大量)を変数に組み込んだ多変量解析を施行し、さらに詳細にION発生との関連を検討した。

〈倫理面への配慮〉

本研究を開始するにあたり、京都府立医科大学における人間を対象とする医学研究審査委員会の承認を得た。また、患者に対して専用の同意書を作成し、文書による同意を得た。

C. 研究結果

〈統計解析〉

Table 1に検討対象の一般特性を示す。性別、移植時年齢、移植腎の種類(生体腎、死体腎)、急性拒絶反応の有無については、ION発生群と非発生群の間で有意差は認められなかった。移植後に使用した

免疫抑制剤の種類ではtacrolimusでION発生の頻度が高かったが、有意差は認められなかった (p=0.07)。また、ステロイド投与プロトコールについては、大量投与プロトコールでION発生が高率であった (p=0.05)。

Table 2にPAI-1およびMTHFRの遺伝子型とIONリスクに関するlogistic regression modelの結果を示す。本検討の対象症例におけるPAI-1 4G/5Gの出現頻度については、5G/5G：13.1%、4G/5G：48.9%、4G/4G：38.0% (アレル頻度 5G：0.38、4G：0.62) であり、過去の日本人健常人を対象とした検討とほぼ同じ出現頻度を示した²²⁾。ION発生に関して、性別、移

植時年齢、ステロイドプロトコール、免疫抑制剤の種類、急性拒絶反応の有無、および移植腎の種類に基づいた多変量解析で、各遺伝子型とION発生について有意差は認められなかった (Adjusted odds ratio：OR=1.81、95%CI: 0.48~6.78、P=0.38)。

本検討の対象症例におけるMTHFR C677T出現頻度は、CC：38.7%、CT：43.8%、TT：17.5% (アレル頻度 C：0.61、T：0.39) であった。多変量解析でION発生に関してCC、CT、TT間で有意差は認められなかった (Adjusted OR=0.96、95%CI: 0.30~3.08、P=0.94)。

Table 1. 対象の一般特性

		Idiopathic osteonecrosis of the femoral head (ION)		
		ION 発生群	ION 非発生群	p
性別：n (%)	男性	20 (64.5)	79 (74.5)	0.28*
	女性	11 (35.5)	27 (25.5)	
移植時年齢	平均	38.6	36.5	0.58 [#]
	中央値 (範囲)	34.0 (20-63)	36.0 (9-62)	
免疫抑制剤	Cyclosporin: n (%)	25 (80.7)	67 (63.2)	0.07*
	Tacrolimus: n (%)	6 (19.4)	39 (36.8)	
移植腎：n (%)	生体腎	25 (80.7)	92 (86.8)	0.40**
	死体腎	6 (19.3)	14 (13.2)	
急性拒絶反応：n (%)	なし	28 (90.3)	87 (82.1)	0.41**
	あり	3 (9.7)	19 (17.9)	
ステロイドプロトコール	少量	12 (38.7)	62 (58.5)	0.05*
	大量	19 (61.3)	44 (41.5)	

*Chi-squared test, [#]Wilcoxon's rank sum test, **Fisher's exact test.