

の3次元CADモデルを作製し、このデータを元にブロック状のNEOBONEを3次元切削器（Roland DG、MDX-20）にて切削することにより欠損部に合致するready-to-useのカスタムデザインNEOBONEを作製

した。図14.1.5は、関節リウマチの人工足関節置換術後の弛みのため広範な骨欠損を生じた症例である。同様にカスタムデザインNEOBONEを作製し、欠損部に補填し足関節固定術を施行した。NEOBONEの

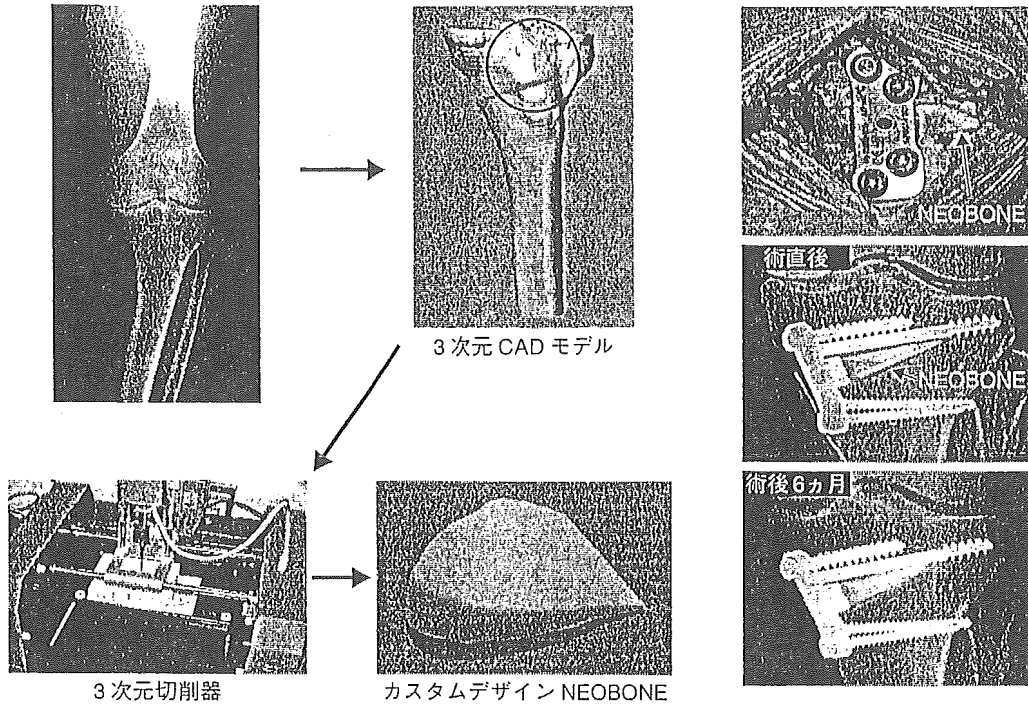


図 14.1.4 NEOBONE による変形性膝関節症の治療
高位脛骨骨切り術。62 歳、女性、左変形性膝関節症。

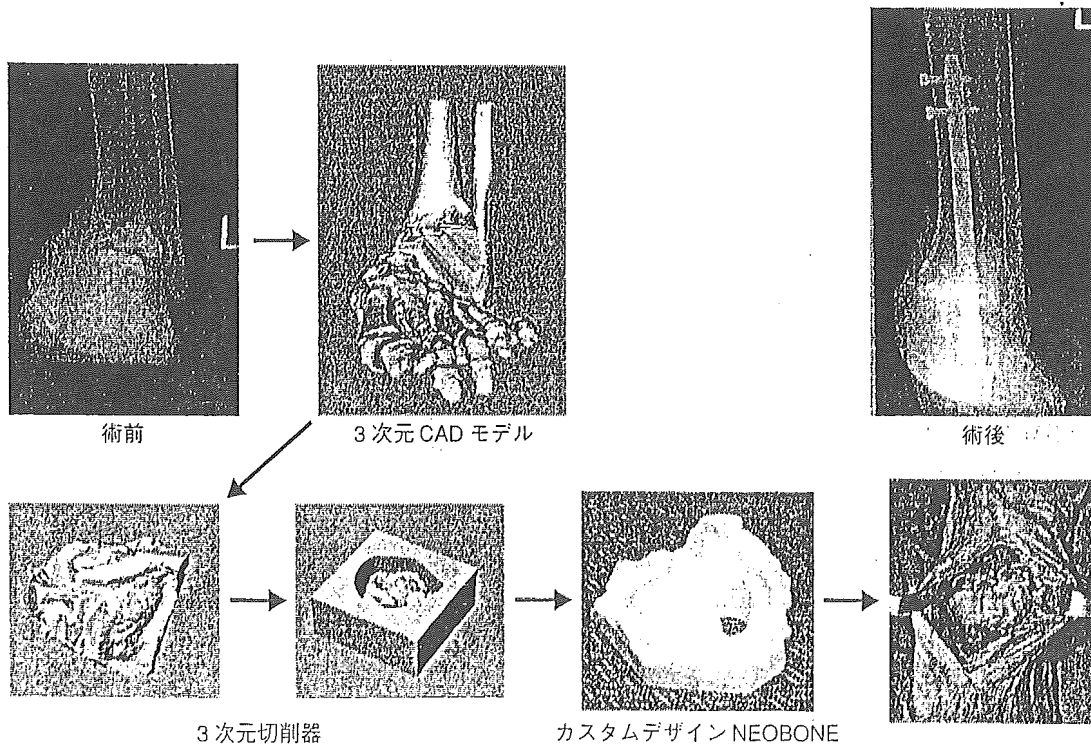


図 14.1.5 NEOBONE による関節リウマチの治療
人工関節弛みによる広範骨欠損に対する関節固定術。72 歳、女性、関節リウマチ。

使用により、リウマチや骨粗鬆症など、良好な移植骨が得られない症例でも骨再生が可能となった。

1.5 自家骨髄培養細胞導入人工骨による骨再生医療

上記臨床例では良好な成果を示したが、NEOBONE 単独で使用可能なのは骨再生条件の良好な比較的小さな骨欠損に限られる。感染による骨欠損、偽関節、腫瘍による高度骨欠損などの骨形成条件の悪い部位にはNEOBONE 単独での骨移植では不十分で、NEOBONE 自体に骨形成能を有する Bio-Active NEOBONE (培養骨) が必要と考えられる。大阪大学医学部附属病院に新設された未来医療センターのプロジェクトとして「自家骨髄由来培養細胞導入人工骨による骨疾患の治療—第 I/II 相臨床試験」を開始した¹⁵⁾。未来医療センターは再生医療や遺伝子治療などの臨床プロジェクトについて、プロトコル作製・支援、医学的評価、倫理的・社会的評価を経て系統的に推進し、有効性・安全性・経済性などについて客観性の高い分析を支援している。対象は長径 30 mm 以上の良性骨腫瘍の 20 歳以上の患者で、①患者から 200 ~ 800 mL の末梢血を採取し遠心分離にて血清を分離、②外来処置にて骨髄穿刺を行い骨髄液 15 ~ 50 mL を採取、③未来医療センター内に設置された細胞調整施設 (Cell Processing Center ; CPC) において、骨髄細胞を自己血清を用いて培養増幅し (初期培養)、NEOBONE の気孔内に導入して骨芽細胞への分化誘導培養 (2 次培養) を行い、④合計 4 ~ 6 週の培養後、最終製品である“培養骨”を手術室に搬送し、良性骨腫瘍の搔爬術で生じた骨欠損に移植している。

1.6 おわりに

近年、種々の人工骨の開発が進められ骨の再生医学への臨床応用が期待されている。今回開発した NEOBONE の使用により、連通気孔構造を利用して骨髄幹細胞や BMP 等のサイトカインを気孔内に容易に導入することが可能となった。BMP の生物活性をさらに有効に利用し、骨再生をさらに促進できるものとする。また臨床での BMP の使用量を減少できる可能性が示された。NEOBONE は単独使用においても良好な結果を示したが、血管の導入や自己骨髄細胞を導入した生体活性型人工骨が臨床応用されれば、これまで困難であった難治性骨関節疾患の治療に貢献できることを期待する。今後、組織工学、分子生物学のさ

らなる進歩により、先端医療としての骨組織の Tissue Engineering が可能になるものと思われる。

文献

- 1) Yoshikawa H, et al: Clinical application of calcium hydroxyapatite ceramic in bone tumor surgery. Wise DL ed: Biomaterials and Bioengineering Handbook, Marcel Dekker, New York, p433-455, 1999
- 2) Matsumine A, et al: Calcium hydroxyapatite ceramic implants in bone tumor surgery. A long-term follow-up study. J Bone Joint Surg 86B: 719-725, 2004
- 3) Nishikawa M, et al: Calcium phosphate ceramics in Japan. Yaszemski MJ, et al ed: Biomaterials in Orthopedics, Marcel Dekker, New York, p425-436, 2004
- 4) Tamai N, et al: Novel hydroxyapatite ceramics with an interconnective porous structure exhibit superior osteoconduction in vivo. J Biomed Mater Res 59: 110-117, 2002
- 5) 吉川秀樹ほか: 骨組織再生の促進。整形外科の最新医療、先端医療技術研究所、東京、p45-48, 2003
- 6) Myoui A, et al: Three-dimensionally engineered hydroxyapatite ceramics with interconnected pores as a bone substitute and tissue engineering scaffold. Yaszemski MJ, et al ed: Biomaterials in Orthopedics, Marcel Dekker, New York, p287-300, 2004
- 7) Ohgushi H, et al: Stem cell technology and bioceramics: from cell to gene engineering. J Biomed Mater Res 48: 913-927, 1999
- 8) Nishikawa M, et al: Bone tissue engineering using novel interconnected porous hydroxyapatite ceramics combined with marrow mesenchymal cells: Quantitative and three-dimensional image analysis. Cell Transplantation 13: 367-376, 2004
- 9) Saito N, et al: Biodegradable poly-, l-lactic acid-polyethylene glycol block copolymers as a BMP delivery system for inducing bone. J Bone Joint Surg 83A: S92-S98, 2001
- 10) Kaito T, et al: Potentiation of the activity of bone morphogenetic protein-2 in bone regeneration by a PLA-PEG/hydroxyapatite composite. Biomaterials 26: 73-79, 2005
- 11) Akita S, et al: Capillary vessel network integration by inserting a vascular pedicle enhances bone formation in tissue-engineered bone using interconnected porous hydroxyapatite ceramics. Tissue Engineering 10: 789-795, 2004
- 12) Tamai N, et al: A new biotechnology for articular cartilage repair: subchondral implantation of a composite of interconnected porous hydroxyapatite, synthetic polymer (PLA/PEG), and bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). Osteoarthritis Cartilage 13: 405-417, 2005
- 13) 玉井宣行ほか: 新規全気孔連通型 HA 多孔体 NEOBONE を用いた骨欠損に対する治療。関節外科 23: 100-107, 2004
- 14) 玉井宣行ほか: 人工骨材料と骨・関節修復。分子リウマチ 1: 107-112, 2004
- 15) 名井 陽ほか: 連通多孔体型ハイドロキシアパタイトの開発と再生医療への展開。骨・関節・靭帯 17: 1205-1215, 2004

(吉川秀樹、名井 陽)

特別講演

運動器の再生医療の現状と展望*

吉川 秀樹**

はじめに

2000年より始まった“骨関節の10年 (Bone and Joint Decade)”政策に伴い、世界的に運動器疾患に対する積極的な研究推進が図られている。この世界運動の対象は、関節疾患、脊椎疾患、骨粗鬆症、重度外傷、小児運動器障害が挙げられており、この10年間の達成目標は、以下の4点である。1. 運動器障害の実態を調査し、患者、家族、社会や経済に及ぼす負担を把握し、社会に知ってもらう。2. 患者や市民に自らの健康管理について、より積極的に参加してもらう。3. 質の高い、経済効率の良い医療・予防法を広く実施する。4. より本質的な治療・予防法を開発するための基礎的研究を推進する。このような世界運動の中で、近年、特に問題となっているのは、高齢化に伴い、変形性関節症、骨粗鬆症による大腿骨頭部骨折、脊椎圧迫骨折が増加していることである。変形性関節症に対しては、人工関節による手術が普及してきたが、その耐久性には、未だ問題があること、人工関節近傍の骨が脆弱なため、人工関節のゆるみや、骨折などをしばしば惹起する。また、骨の感染や腫瘍切除後の大きな骨の欠損部の修復にも骨再生医療が必要である。一方、スポーツの普及による関節軟骨損傷や加齢に伴う関節軟骨の変性・破綻に対しては、軟骨の再生医療が必要である。軟骨は、本来再生能力が乏しいため、再生のためには軟骨細胞や骨髄幹細胞の導入が必要で、コラーゲンなどの担体を用いた軟骨の再生が試みられている。その他、腱、靭帯、半月板、神経など運動器の再生医療のための基礎的研究が進められている。本稿では、骨、軟骨、半月板の再生を中心に、運動器の再生医療の現状と将来展望について概説する。

骨の再生

骨組織は、骨折の治癒現象に代表されるように、本来豊かな再生能力を有しており、創外固定器による脚延長や変形矯正により、骨を再生させる技術が進歩してきた。しかし、骨腫瘍の切除後や、重度の粉砕骨折などで生じた大きな骨欠損に対しては、自家骨では対応できず、骨の再生医療が必要となる。ま

た、骨折や骨欠損の早期の修復のためには、幹細胞移植や増殖/分化因子による骨形成促進を併用する必要がある。骨は力学的強度を必要とする組織であり、その再生/修復には、骨形成細胞の足場としての良好なバイオマテリアルの開発と、間葉系細胞や骨芽細胞の増殖・分化の促進の両面から研究が進んでいる。骨は力学的強度が必要であり、その再生には、骨が形成される足場としての良好な人工骨の開発が必要である。近年、ハイドロキシアパタイトセラミック (HA) などの優れた人工骨が開発され、自家骨移植に代わって広く使用されつつある¹⁾²⁾。著者らは、力学的強度を有し、かつ幹細胞や骨増殖因子の導入が可能な骨補填材料として、気孔間連通構造を有する新規ハイドロキシアパタイトを開発した³⁾。“起泡ゲル化技術”による新規多孔体人工骨 (NEOBONE) は、ほぼ球形で比較的均一のサイズの気孔が秩序良く配列し、ほぼ全気孔が気孔間連通孔で連絡している (図1)。連通孔径分布は10～80 μm (平均40 μm) にあり、気孔の90%が細胞や組織が十分通過できる大きさの連通孔でつながっており、気孔の内部に骨髄幹細胞、血管、骨形成蛋白 (BMP) などの増殖因子/サイトカインや遺伝子の導入が可能である。実際、この気孔の内部にラット骨髄幹細胞を注入し、任意の部位に骨形成を惹起することに成功している⁴⁾ (図2)。力学的強度は初期圧縮強度で10 Mpa以上であり優れた数値を示した。ウサギ大腿骨にNEOBONEを移植した際に、移植後わずか6週間で直径6 mmの円柱の深層にまで気孔間連通孔を経て、豊富な血管新生を伴う、新生骨、新生骨髄が観察され、優れた骨再生能を示した。現在、血管⁵⁾やBMP⁶⁾を導入し (図3)、さらなる骨再生の促進を試みており、近い将来、先端医療としての、骨組織のTissue Engineeringが可能になるものと思われる。現在、このNEOBONEは、厚生労働省の認可を得、広く医療現場で使用されている。自家骨を採取することなく、NEOBONE単独で、種々の骨欠損部の

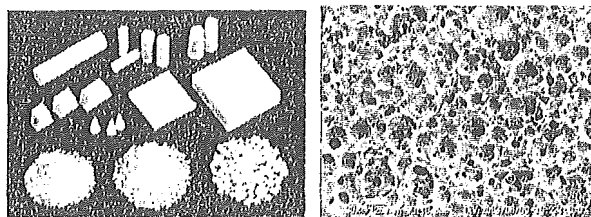


図1 骨再生のための新規人工骨 (NEOBONE) (左：肉眼像、右：走査電顕像での内部気孔と連通孔)

* Regenerative Medicine of the Musculoskeletal System: Current Status and Perspective

** 大阪大学大学院医学系研究科器管制御外科学 (整形外科) (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2)
Hideki Yoshikawa, MD, PhD: Department of Orthopaedic Surgery, Osaka University Graduate School of Medicine
キーワード：骨再生, 人工骨, 再生医療

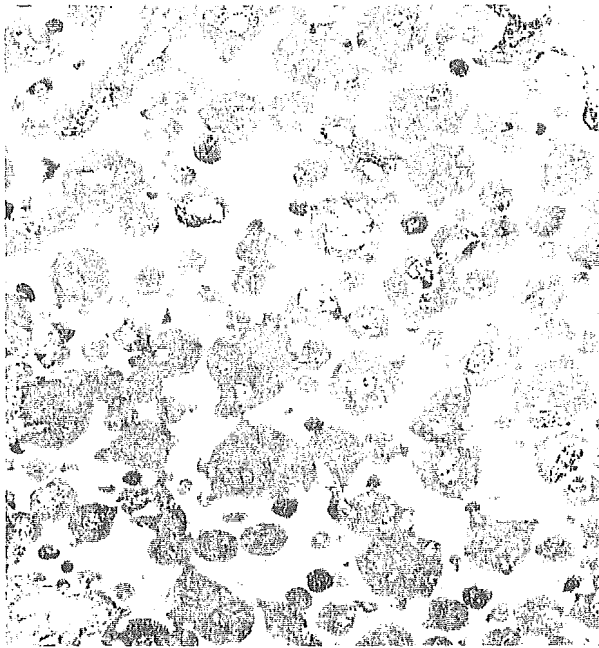


図2 ラット骨髄幹細胞とNEOBONE複合体を筋肉内移植後4週の骨形成

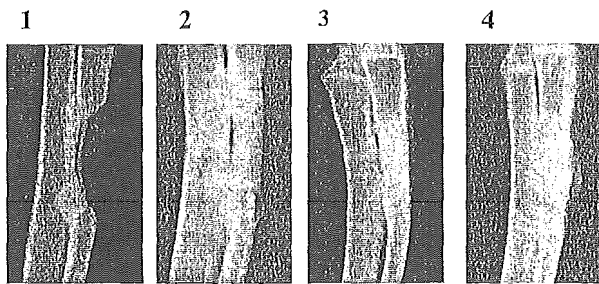


図3 NEOBONEと骨形成蛋白 (BMP) によるウサギ前腕骨欠損部の再生 (1: 欠損のみ, 2: NEOBONEのみ, 3: NEOBONE/BMP 5 µg, 4: NEOBONE/BMP 20 µg) (移植後5週)

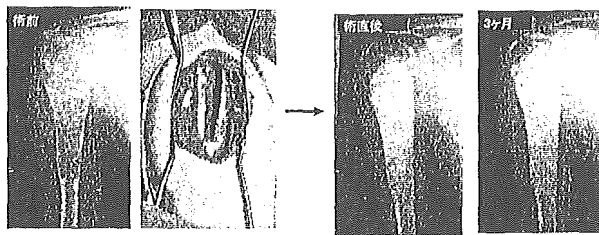


図4 良性骨腫瘍の骨再生 (14歳, 男子, 右上腕骨骨のう腫)

再生に臨床応用している。骨腫瘍による骨欠損部に対しては、NEOBONEにより良好な治療成績が得られている (図4)。また、高位脛骨骨切り術に対する骨接合のため、3次元コンピューターシミュレーションを用いて術前にNEOBONEを成型し、使用している (図5)。また、関節近傍の骨囊腫がある症例では、まずNEOBONEを移植し母床骨を再生させ、2期的に人工関節を設置している (図6)。関節リウマチ患者の人工関節のゆるみによる広範囲の骨欠損に対しても、同様のシミュレーションを用いて、骨欠損部の補填を行い、自家骨移植なしで、良好な骨癒合を得ている (図7)。

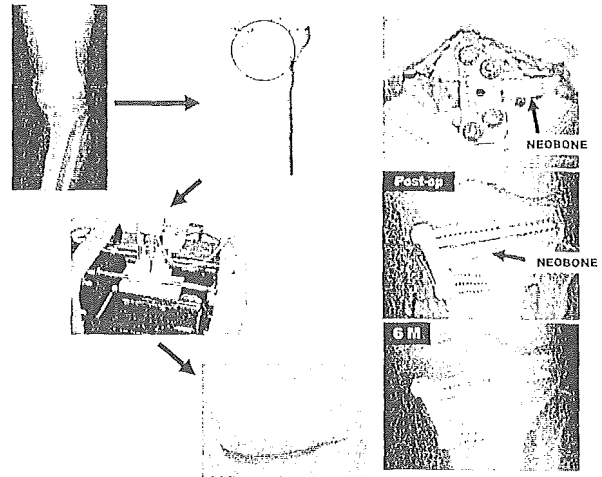


図5 高位脛骨骨切り術 (62歳, 女性, 左変形性膝関節症)

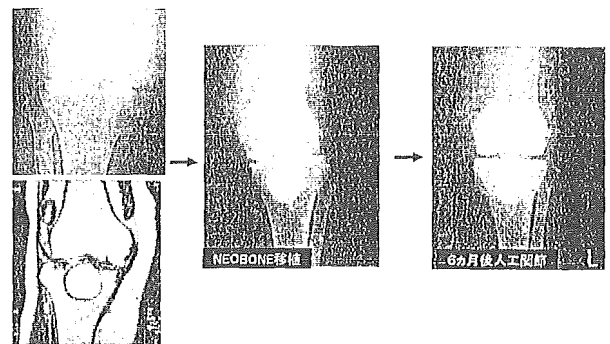


図6 関節近傍の骨再生後の人工関節設置例 (65歳, 女性, 関節リウマチ)

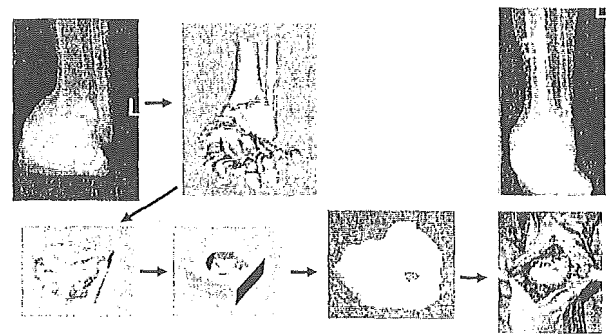


図7 人工関節ゆるみによる広範骨欠損に対する関節固定術 (72歳, 女性, 関節リウマチ)

軟骨の再生

近年のスポーツ人口の増加に伴い、膝関節軟骨損傷例が著しく増加している。これら若年者—成人の軟骨損傷に対しては、骨髄幹細胞の導入のための骨孔作成 (ドリリング) や、健康部の骨軟骨柱を採取し、欠損部に移植するという自家骨軟骨移植術などの治療が行われている⁷⁾ (図8)。しかし、小さい軟骨欠損部に対しては、良好な成績が得られているものの、大きな軟骨損傷や、変形性関節症による高齢者の軟骨変性の修復には、これらの方法では対応できないのが現状である。関節軟骨の修復能力は骨と比較し著しく劣り、成人では、完全な硝子軟骨で

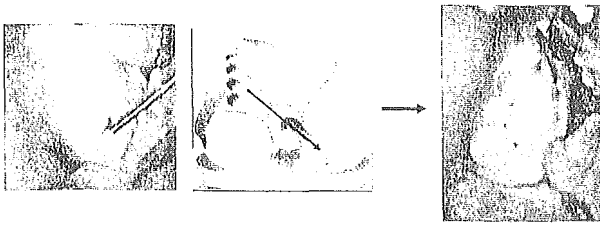


図8 自家骨軟骨移植術（左：術前，右：術後）

修復されることは考えにくい。その理由の一つとしては、欠損部に供給される前駆細胞数が十分でないことが考えられる。従って、軟骨再生には、軟骨細胞や骨髄幹細胞を用いた種々 Tissue Engineering の試みがなされてきた。

1. 自家軟骨細胞移植による関節軟骨の再生

米国 Genzyme 社は、1997年、整形外科分野での関節軟骨の再生を目指した自家軟骨細胞培養・移植法を開発し、FDAの認可を受け商品化した (Carticel[®])。実際には、各医療施設において、膝関節損傷患者に対し、関節鏡視下にて非荷重部から軟骨組織を採取する。軟骨組織は、ボストンの Genzyme 社に送られ、酵素処理により消化され、軟骨細胞が分離・培養される。約3週後に、元の医療施設に返送され、同患者さんに移植手術が行われるシステムである⁸⁾。欠損部の変性した軟骨を除去し、脛骨前面より採取した骨膜を欠損部に縫着し、骨膜下に軟骨細胞を注入する方法である。累積移植患者数は5000例を超えており、臨床評価としてはある程度良好な成績が報告されている。現在、本邦でも同様の手法で臨床試験が開始されている。しかし、臨床評価のみで、MRIなどによる客観的評価が十分になされていないこと、感染のリスク、医療費の問題など検討すべき問題点が残されている。

2. 自家軟骨細胞や骨髄間葉系細胞移植による関節軟骨の再生

ウサギの関節軟骨細胞を採取し、in vitroで増殖させた後、I型コラーゲン・ゲル内に埋植し、大腿骨内顆荷重部に作成した6×3×3mmの骨軟骨欠損部に充填した。移植後2週間で、移植細胞は軟骨に分化し、骨軟骨欠損部全域が軟骨に再生した。24週間後には、軟骨下骨は完全に修復され、関節軟骨は、軟骨として残存した⁹⁾ (図9)。一方、骨髄あるいは骨膜に存在する間葉系細胞中には、軟骨前駆細胞が含まれている。そこで、十分な前駆細胞を軟骨欠損部に供給するために、骨髄間葉系細胞をin vitroで増殖させ、軟骨欠損部に移植し、軟骨再生を促進できる可能性がある。現在、変形性膝関節症患者に対し臨床試験が試みられている。すなわち、高位脛骨骨切術の手術後3週間前に、本人の腸骨から、骨髄細胞を採取し、培養増殖させた後、コラーゲン・ゲル内に包埋し、軟骨変性部に移植する。コラーゲン・ゲルの表面は、本人の脛骨骨膜を採取し被覆する。術後34週で、関節鏡で確認できた症例では、正常軟骨よりやや軟らかいが、一部に硝子軟骨による再生が観察できた¹⁰⁾ (図10)。しかし、現在、軟骨再生医療の評価は臨床症状の改善で行われており、今後、軟骨の再生医療が実施された場合、再生軟骨のマトリクス成分の評価、強度の検定など、MRIその他

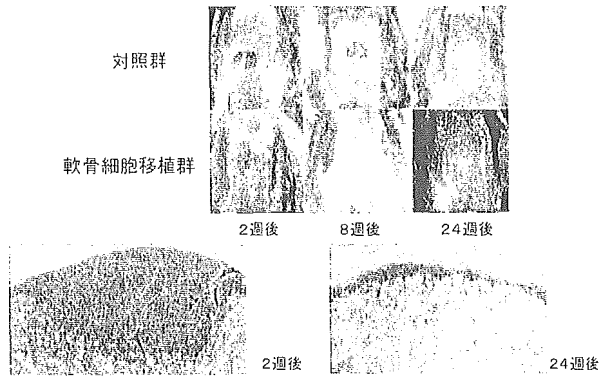


図9 ウサギ関節軟骨全層欠損に対する軟骨細胞移植術（上：肉眼的所見，下：組織学的所見）

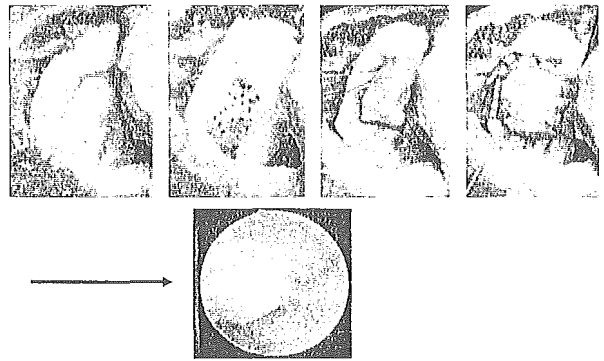


図10 変形性膝関節症に対する自家骨髄間葉系細胞移植術（上：軟骨細胞移植後骨膜にてシールし、縫合する、下：術後34週での関節鏡所見）

の客観的、非侵襲的評価が是非必要であると考えられる。

半月板の再生

半月板損傷はスポーツで多い膝外傷として知られ、痛みや膝がスムーズに動かずひっかかるなどの症状のためスポーツ活動に支障をきたす。しかし、半月板損傷の修復、再生の治療は困難で、いまだ発展途上といえる。半月板治療は、かつては半月切除術が多く行われてきたが、すでに50年以上も前に Fairbanks が半月切除術ののちに膝の障害をきたし変形性関節症にいたることを報告し、それ以後も半月切除による問題点が多く指摘されている¹¹⁾。近年では半月縫合術をはじめとする修復治療が行われるようになり、関節鏡技術の進歩とともに適応もひろがりつつあるが、なお限界もあり、半月板の修復、再生の治療は困難である。半月板の研究のスタートは、実験動物のウサギを用いて細胞や器官培養実験から半月細胞は fibrochondrocyte と呼ばれる独特の細胞であると報告されたのに続き¹²⁾、ヒト半月で生化学的な研究が行なわれ¹³⁾、さらに近年では、ブク半月で成長因子や力学的刺激による影響が調べられている¹⁴⁾。最近では、半月移植用に組織や scaffold を用いた半月の再生の研究が行われている¹⁵⁾¹⁶⁾ (図11)。我々は、ヒト半月細胞の抽出、初代培養、scaffoldを用いた3次元培養、半月細胞と骨髄由来間葉系細胞を用いた力学刺激による半月再生を試みている。現在、ミニブクを用いて、半月損傷の実験モデルを作成し、半月板細胞とコラーゲン scaffold を用いた移植用

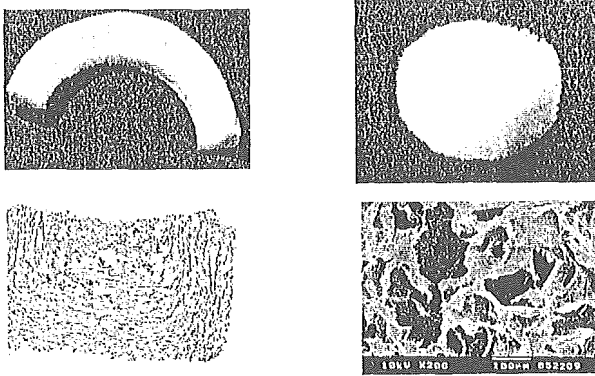


図11 半月板再生のためのコラーゲン Scaffold (左: ReGen Biologics 社製, 右: 高研社製)

培養半月にて半月再生実験を行っている。この動物実験モデルにて、修復不能な半月損傷が自家半月細胞を含むコラーゲン scaffold にて補填した場合には修復像がみられ、半月再生に有効であると考えられ、解析を進めている。

おわりに

骨・軟骨・半月板の再生医学の現状と今後の臨床応用の可能性について述べた。骨という力学的強度を必要とする組織再生には、NEOBONEのような優れた生体材料の開発が必須である。また、その特長である連通気孔構造を生かして BMP などの分化/増殖因子や骨形成性細胞を気孔内に導入した生体活性型の人工骨開発への応用が期待される。軟骨の再生については、骨と比べ、未だ臨床応用が遅れているのが現状であり、より優れた担体と細胞導入法の開発が今後も必要である。BMP などの分化/増殖因子を併用した新しい治療法の開発も必要であると考えられる。半月板の再生には、半月板細胞とコラーゲン scaffold を用いた半月が最も期待されるが、再生半月の耐久性など今後検討すべき課題が多いのが現状である。今後、組織工学、分子生物学の進歩により、新しい担体、活性促進薬の開発がなされ、骨・軟骨・半月板の再生医療がさらに発展することを期待する。

文 献

- 1) Uchida A, Araki N, *et al.*: The use of calcium hydroxyapatite ceramic in bone tumor surgery. *J Bone Joint Surg* 72-B: 298-302, 1990.
- 2) Yoshikawa H, Uchida A: Clinical application of calcium hydroxyapatite ceramic in bone tumor surgery. *Handbook of Biomaterials Engineering*. Wise DL, (ed), Marcel Dekker Inc., 1999, pp433-455.
- 3) Tamai N, Myoui A, *et al.*: Novel hydroxyapatite ceramics with an interconnective porous structure exhibit superior osteoconduction in vivo. *J Biomed Mater Res* 59: 110-117, 2002.
- 4) Nishikawa M, Myoui A, *et al.*: Bone tissue engineering using novel interconnected porous hydroxyapatite ceramics combined with marrow mesenchymal cells: Quantitative and three-dimensional image analysis. *Cell Transplantation* 13: 367-376, 2004.
- 5) Akita S, Tamai N, *et al.*: Capillary vessel network integration by inserting a vascular pedicle enhances bone formation in tissue-engineered bone using interconnected porous hydroxyapatite ceramics. *Tissue Engineering* 10: 789-795, 2004.
- 6) Kaito T, Myoui A, *et al.*: Potentiation of the activity of bone morphogenetic protein-2 in bone regeneration by a PLA-PEG/hydroxyapatite composite. *Biomaterials* 26: 73-79, 2005.
- 7) Matsusue Y, Kotake T, *et al.*: Arthroscopic osteochondral autograft transplantation for chondral lesion of the tibial plateau of the knee. *Arthroscopy* 17: 653-659, 2001.
- 8) Minas T, Nehrer S: Current concepts in the treatment of articular cartilage defects. *Orthopedics* 20: 525-538, 1997.
- 9) Wakitani S, Goto T, *et al.*: Mesenchymal cell-based repair of large full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 76A: 579-592, 1994.
- 10) Wakitani S, Imoto K, *et al.*: Human autologous culture expanded bone marrow mesenchymal cell transplantation for repair of cartilage defects in osteoarthritic knees. *Osteoarthritis Cartilage* 10: 199-206, 2002.
- 11) Fairbank TJ: Knee joint changes after meniscectomy. *J Bone Joint Surg* 30B: 664-670, 1948.
- 12) Collier S, Ghosh P: Effects of transforming growth factor beta on proteoglycan synthesis by cell and explant cultures derived from the knee joint meniscus. *Osteoarthritis Cartilage* 3: 127-138, 1995.
- 13) Tanaka T, Fujii K, *et al.*: Comparison of biochemical characteristics of cultured fibrochondrocytes isolated from the inner and outer regions of human meniscus. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 7: 75-80, 1999.
- 14) Lietman SA, Hobbs W, *et al.*: Effects of selected growth factors on porcine meniscus in chemically defined medium. *Orthopedics* 26: 799-803, 2003.
- 15) Rodkey WG, Steadman JR, *et al.*: A clinical study of collagen meniscus implants to restore the injured meniscus. *Clin Orthop* 367: S281-292, 1999.
- 16) Mueller SM, Shortkroff S, *et al.*: Meniscus cells seeded in type I and type II collagen-GAG matrices in vitro. *Biomaterials* 20: 701-709, 1999.

CASE REPORT

Toshinori Sakai · Yoshito Matsui · Shinsuke Katoh
Kiminori Yukata · Daisuke Hamada · Yoichiro Takata
Hiromichi Yokoi · Natsuo Yasui

Asynchronous progressive diaphyseal dysplasia

Received: June 21, 2005 / Accepted: October 13, 2005

Abstract We report the case of a 42-year-old Japanese woman with unusual diaphyseal dysplasia of bilateral femora. Radiographs showed thickening and sclerosis of the cortex with resultant enlargement of the diaphysis, unclear demarcation of the surface of the cortex, and no periosteal reaction. These changes were found on the left femur at the first presentation, and those on the right femur developed within several years. Although this patient partly presented characteristics of Ribbing disease and Camurati–Engelmann disease, the focal involvement of bilateral femora suggested an unknown pathogenesis.

Key words Asynchronous onset · Caffey disease · Camurati–Engelmann disease · Diaphyseal dysplasia · Femur · Ribbing disease

Introduction

Diaphyseal dysplasia is a rare bone dysplasia, which is known as Ribbing disease¹ or Camurati–Engelmann disease.² Radiographically, thickening of the cortices of the long bones is observed. Only the cortical bone of the diaphysis is involved and the metaphysis and epiphysis of the same bones are usually normal. The etiology of these diseases is unknown and therefore the optimal treatment for these patients has not been established.

T. Sakai · Y. Matsui · S. Katoh · K. Yukata · D. Hamada · Y. Takata · N. Yasui (✉)
Department of Orthopedics, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School, 3-18-15 Kuramoto-cho, Tokushima 770-8503, Japan
Tel. +81-88-633-7240; Fax +81-88-633-0178
e-mail: nyasui@clin.med.tokushima-u.ac.jp

H. Yokoi
Department of Orthopedics, National Kagawa Children's Hospital, Kagawa, Japan

We report the case of a 42-year-old Japanese woman, whose clinical and radiological features do not completely fit the diagnosis of classical diaphyseal dysplasia. The features of this patient were asynchronous onset, focal involvement of bilateral femora, and a negative family history. The diagnosis of this patient has not been established as yet.

Case report

A 42-year-old woman presented with a 1-year history of pain in the left thigh with insidious onset. The patient had neither a history of traumatic event nor constitutional symptoms of a systemic illness. Her family history was negative. On examination, there was tenderness on the distal anteromedial aspect of the left thigh. The range of motion of bilateral hips and knee joints was full. Radiographs of the left femur showed thickening of the cortex and sclerosis with the resulting enlargement of the diaphysis, unclear demarcation of the surface of cortex, and no periosteal reaction, whereas the right femur was apparently normal (Fig. 1). A ^{99m}Tc-medronate (MDP) bone scan revealed marked uptake in the left femur and very minor uptake in the right femur (Fig. 2A). A T1-weighted coronal image showed an intramedullary lesion of low signal intensity, while a T2-weighted coronal image revealed a high-intensity lesion on bilateral thighs (Fig. 3). The laboratory findings were normal, except for a slight increase of the white blood cell (WBC) count to 15300, a C-reactive protein (CRP) value of 0.52 mg/dl, an alkaline phosphatase (ALP) value of 255 U/l, a lactate dehydrogenase (LDH) value of 255 U/l, a calcium value of 9.5 mg/dl, and a phospholipid value of 3.3 mg/dl. A needle biopsy was performed. The bacteriological examination was negative, but the histological examination revealed nonspecific destructive and reparative changes of the bone without infiltration of inflammatory cells or tumor cells. Antibiotics did not help to alleviate her symptoms.

Four years after the onset, the symptoms had not disappeared, but the right thigh had remained asymptomatic.

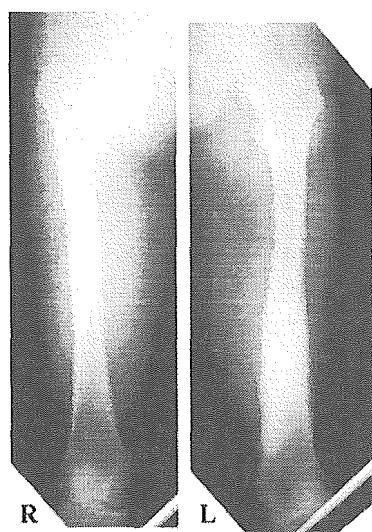


Fig. 1. Anteroposterior radiographs of the femora obtained when the patient was 42 years old. Marked cortical thickening of the left femur was detected

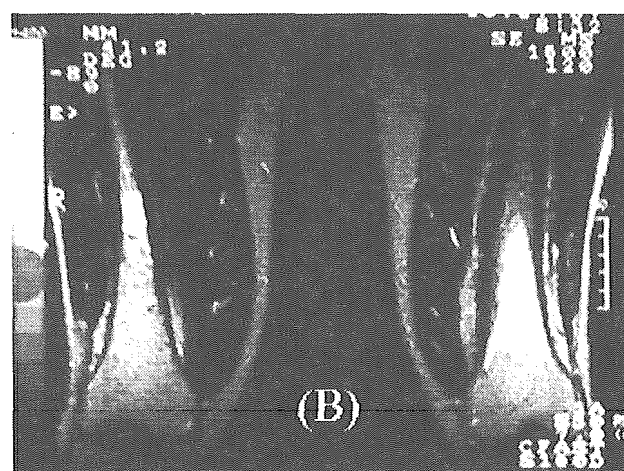
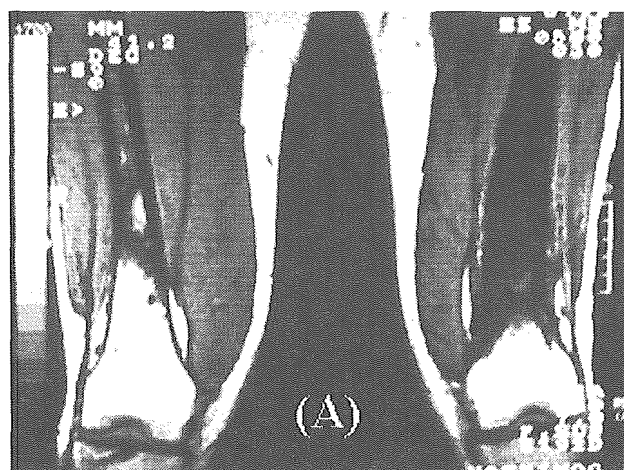


Fig. 3A,B. Magnetic resonance images of the distal thighs obtained at the age of 42 years. **A** T1-weighted coronal image showing an intramedullary lesion of low signal intensity. **B** T2-weighted coronal image showing a lesion of high signal intensity on bilateral femora

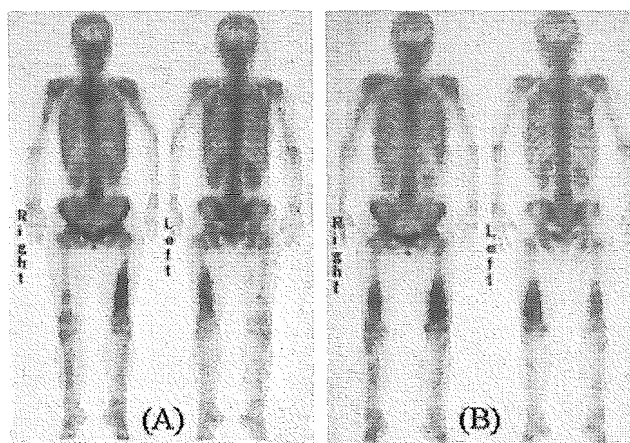


Fig. 2A,B. ^{99m}Tc -Medronate bone scans. **A** At the age of 42 years marked uptake was noted in the diaphysis of the left femur, whereas only very minor uptake was detected in the right femur. **B** At the age of 45 years, asymmetric, increased uptake was observed at the femora while there was no remarkable uptake at other sites

The patient was afebrile and had no signs of inflammation on either thigh. The laboratory examination disclosed slight inflammatory findings similar to those observed at the first presentation. Radiographs of bilateral femora showed thickening of the cortex and sclerosis, the left lesion showed progressive changes, and the right lesion showed a remarkable thickening of the cortex and sclerosis compared with the initial radiographs (Fig. 4). Axial computed tomography (CT) scan showed thickening of the cortex of bilateral femora (Fig. 5A), and a laminar productive change was observed in the left femur (Fig. 5B). A ^{99m}Tc -MDP bone scan revealed increased uptake in both lesions and no remarkable uptake at other sites (Fig. 2B). A needle biopsy of

the lesion in the left femur was performed again, and the histological examination showed hyperostosis.

The patient was prescribed etidronate disodium, which contributed toward alleviating pain to a certain extent. The patient has been followed up while under treatment with nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). She has presented no symptoms related to the lesion on the right femur (Fig. 6).

Discussion

We have described the case of a patient with diaphyseal dysplasia of bilateral femora characterized by asynchronous onset, focal involvement, and a negative family history. Radiographically, thickening of the cortex and sclerosis of bilateral femora were detected. Ribbing disease,¹ Camurati-Engelmann disease,² Caffey disease,³ chronic sclerosing osteomyelitis,^{4,5} multifocal periostitis,⁶ prostag-

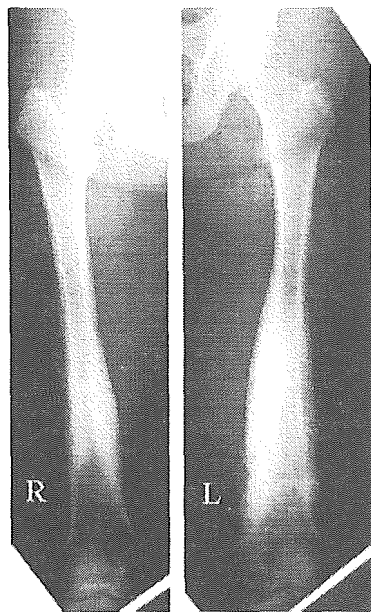


Fig. 4. Anteroposterior radiograph of the femora obtained at the age of 45 years. A remarkable thickening of the cortex and sclerosis were detected in the right femur, while progressive changes were noted in the left femur compared with the initial radiographs

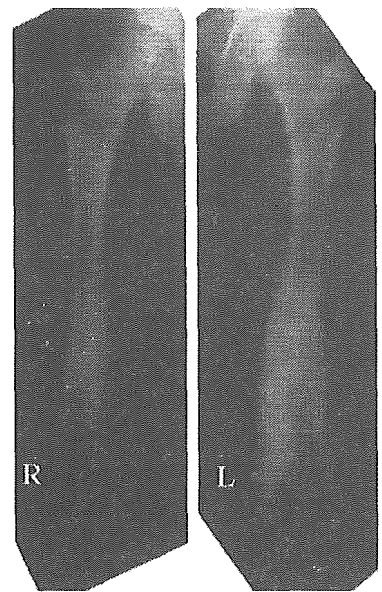


Fig. 6. Anteroposterior radiograph of the femora obtained at the age of 47 years showing progressive changes of the lesions compared with the previous radiographs

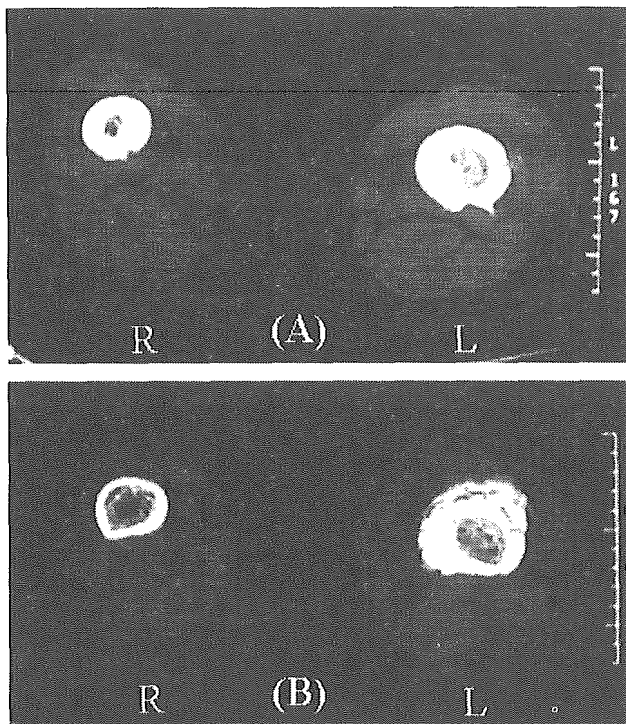


Fig. 5A,B. Axial computed tomography scan obtained at the age of 45 years. **A** Cortical thickening was detected in bilateral femora. **B** Laminar productive change was detected in the left femur on a distal slice

landin E-induced hyperostosis,⁷ and Paget's disease⁸ were considered for the differential diagnosis.

Although Ribbing disease may appear identical to other osteosclerosing diseases, radiographically many clinical differences exist. Camurati-Engelmann disease and Caffey disease present during childhood, whereas Ribbing disease presents in individuals of middle age. Camurati-Engelmann disease is bilateral and symmetric, whereas Ribbing disease is either unilateral or asymmetrically and asynchronously bilateral. Camurati-Engelmann disease affects long bones formed by intramembranous ossification; therefore, the skull is involved almost as frequently as the long bones.⁹ Ribbing disease has been reported only in the long bones. The gait and neurologic abnormalities associated with Camurati-Engelmann disease are absent in Ribbing disease. In our patient only the bilateral femora were affected. The onset was at the age of 41 years, and the lesion of the left femur preceded the one in the right femur. Although most of the reported cases of Ribbing disease were siblings,¹⁰⁻¹¹ the course and physical findings of our patient were suggestive of a rare case of sporadic Ribbing disease.

Chronic osteomyelitis of bilateral femora was thought to be unlikely because the patient presented symmetrical lesions. On the other hand, multifocal periostitis, which is also a rare disease, is difficult to distinguish from sporadic cases of Ribbing disease. There was a possibility that our patient might have multifocal periostitis. Prostaglandin E1-induced hyperostosis and Paget's disease were also considered for the differential diagnosis. However, our patient had not been under treatment with prostaglandin; besides, the thickening of the cortex and sclerosis excluded the diagnosis of Paget's disease.

The lesions observed in our patient have also been observed in patients with palmoplantar pustulosis (PPP) or

pustulotic psoriasis.¹²⁻¹⁴ However, she has no skin problems such as acne or palmoplantar pustulosis. The bone scintigraphy showed a slightly increased uptake at the sternoclavicular joints, but she presented no related symptoms. Although treatment with NSAIDs has proved unsuccessful in most cases with PPP or pustulotic psoriasis, our patient was successfully treated with NSAIDs and etidronate disodium.

In summary, we presented the case of a 42-year-old Japanese woman whose clinical and radiological features did not completely fit the diagnosis of classical diaphyseal dysplasia. Although a sporadic case of Ribbing disease is the most likely diagnosis, no definite diagnosis has been established as yet.

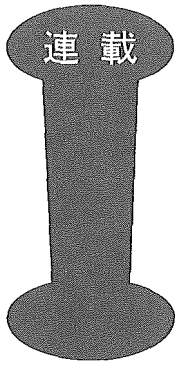
References

1. Ribbing S. Hereditary, multiple diaphyseal sclerosis. *Acta Radiol* 1949;31:522-36.
2. Engelmann G. Ein Fall von Osteopathia Hyperostotica (sclerotisans) multiplex infantilis. *Fortschr Geb Roentgenstr* 1928;39:1101-6.
3. Caffey J. Infantile cortical hyperostosis: a review of the clinical and radiographic features. *Proc R Soc Med* 1957;50(5):347-54.
4. Kozłowski K, Masel J, Harbison S, Yu J. Multifocal chronic osteomyelitis of unknown etiology. Report of five cases. *Pediatr Radiol* 1983;13(3):130-6.
5. Stewart A, Carneiro R, Pollock L, Shaw D. Case report 834: Chronic sclerosing osteomyelitis of the mandible with long bone periostitis. *Skelet Radiol* 1994;23(3):225-7.
6. Kozłowski K, Anderson R, Tink A. Multifocal recurrent periostitis. Report of two cases. *Rofa* 1981;135(5):597-602.
7. Yoshida K, Oida H, Kobayashi T, Maruyama T, Tanaka M, Katayama T, et al. Stimulation of bone formation and prevention of bone loss by prostaglandin E EP4 receptor activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(7):4580-5.
8. Hadjipavlou AG, Gaitanis IN, Kontakis GM. Paget's disease of the bone and its management. *J Bone Joint Surg Br* 2002;84(2):160-9.
9. Shier CK, Krasicky GA, Ellis BI, Kottamasu SR. Ribbing's disease: radiographic-scintigraphic correlation and comparative analysis with Engelmann's disease. *J Nucl Med* 1987;28(2):244-8.
10. Paul LW. Hereditary multiple diaphyseal sclerosis (Ribbing). *Radiology* 1953;60(3):412-6.
11. Furia JP, Schwartz HS. Hereditary multiple diaphyseal sclerosis: a tumor simulator. *Orthopedics* 1990;13(11):1267-74.
12. Davies AM, Marino AJ, Evans N, Grimer RJ, Deshmukh N, Mangham DC. SAPHO syndrome: 20-year follow-up. *Skeletal Radiol* 1999;28:159-62.
13. Kasperczyk A, Freyschmidt J. Pustulotic arthroosteitis: spectrum of bone lesions with palmoplantar pustulosis. *Radiology* 1994; 191(1):207-11.
14. Hyodoh K, Sugimoto H. Pustulotic arthro-osteitis: defining the radiologic spectrum of the disease. *Semin Musculoskel Radiol*. 2001;5:89-93.

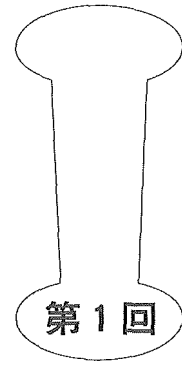
分子リウマチ

別刷

発行：株式会社 先端医学社
〒103-0007 東京都中央区日本橋浜町2-17-8 浜町花長ビル



骨・軟骨研究の展開



わかりやすい蛋白質解析

松井好人

MATSUI Yoshito

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部運動機能外科学

KEY WORDS

運動器, コラーゲン, 蛋白質, リウマチ性疾患, プロテオミクス

POINTS

- 運動器疾患の病巣組織は病態解明の鍵を握る。
- 組織の蛋白質解析は遺伝子解析では得られない情報を与える。
- 蛋白質解析は最新技術の進歩が顕著な研究分野である。

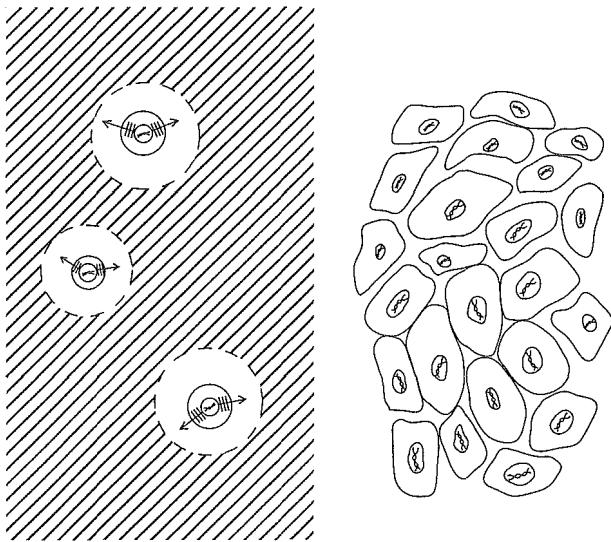
はじめに

私たち整形外科医が手術により加療する機会のある関節リウマチや変形性関節症, 変形性脊椎症などのリウマチ性疾患は, 軟骨の変性と破壊を共有する慢性の運動器疾患である。軟骨を筆頭に運動器の多くは細胞外マトリックスが臓器としての機能を担っており, その変性或破壊が疾患の発現に直接かかわっているため, 手術時に切除される病巣組織は病態解明の鍵を握っていると思われる。一方で, 分子細胞生物学実験の免疫沈降やウェスタンブロット法などをつうじて“蛋白質”になじみのある先生方も, “病巣組織の蛋白質を抽出, 精製して解析する”という, 何か古めかしく, 地味でとっつきにくい印象をもたれるのではないだろうか。本稿では著者らがおこなっている運動器疾患の蛋白質解析として, 軟骨コラーゲンを例に概説する。

1. 運動器におけるトランスクリプトームとプロテオームの“ずれ”

ある臓器を解析する際に, 組織 (実際にはそこに住む細胞) から RNA を抽出して遺伝子発現を解析する, あるいは *in situ* hybridization にて遺伝子発現の局在を調べるというアプローチがある。細胞成分の多い実質臓器においては, 組織の代謝回転が比較的速いのでトランスクリプトームとプロテオームが近似していると考えられ, 遺伝子発現の解析はそのときにその場所で機能しているであろう蛋白質を推定するのに有用な方法である。一方, 軟骨を筆頭に運動器の多くは細胞成分に乏しく, 組織の大部分は細胞外マトリックス成分である。したがって, 基本的に運動器の代謝回転は遅く, 運動器を解析するには, 細胞の RNA 転写情報が必ずしも臓器のプロテオームを反映していないことを念頭に置く必要がある (図●)。いいかえると, 運動器細胞のトランスクリプター

65(65)



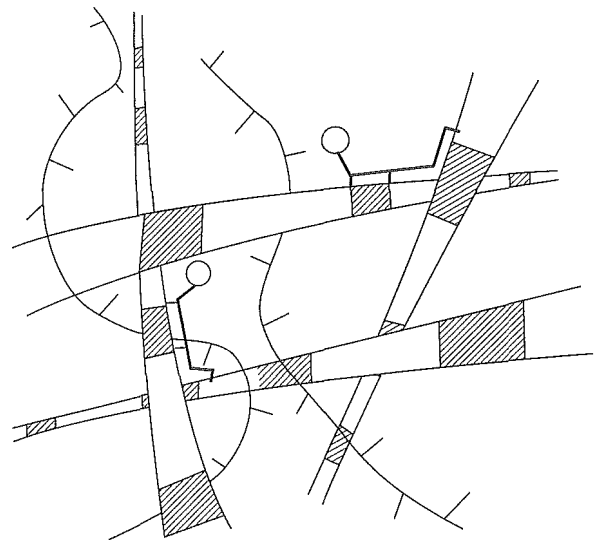
図① 運動器と実質臓器

軟骨をはじめとする運動器（左）は細胞成分に乏しく、細胞外マトリックス成分が大部分を占める。細胞が比較的新しく合成した細胞外マトリックス（点線内）に対して、古い細胞外マトリックス（////）の代謝回転は遅く、細胞のトランスクリプトームとは“ずれ”があるものと考えられる。肝臓などの実質臓器（右）では細胞成分が豊富であり、細胞外マトリックス成分は少ない。

ムと運動器（細胞外マトリックス）のプロテオームにはある程度の“ずれ”があるのであり、運動器が細胞外マトリックス蛋白質のはたらきによって臓器としての機能を発現していることを考えるとき、運動器の病態は蛋白質の解析によってこそ正確に描写されうるものと思われる。

2. 軟骨組織のコラーゲンネットワーク

軟骨細胞外マトリックスの構造はコラーゲン細線維のメッシュワークのなかに水和したプロテオグリカンが存在するというものである（図②）。軟骨コラーゲン細線維は主成分であるII型コラーゲンと少量のXI型コラーゲンが会合して形成されており、その表層にはIX型コラーゲンが存在する。IX型コラーゲンは、他のIX型コラーゲン分子またはII型コラーゲンとクロスリンクすることによってコラーゲンネットワークの構築に重要なはたらきをしているものと考えられている¹⁾。一方で、II型コラーゲンプロモータを用いて軟骨組織特異的に変異IX型コラーゲンを過剰発現させたトランスジェニックマウスは早期発症の変形性関節症を発症し、著明な椎間板変性を



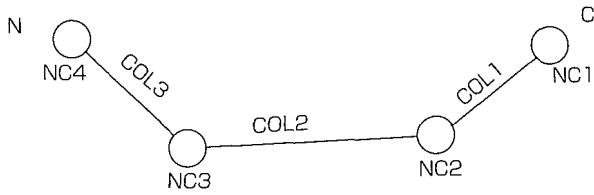
図② 軟骨細胞マトリックス

コラーゲン細線維（■■■）は組織に抗張力を、プロテオグリカン（++）は組織に抗圧縮力を与える。IX型コラーゲン（〃〃）はコラーゲン細線維の表層に存在し、その主成分であるII型コラーゲンとクロスリンクして細線維同士を束ねているものと考えられている。

起こすことがKimuraらのグループ²⁾³⁾により実験的に証明されており、ヒトではIX型コラーゲン遺伝子の変異により多発性骨幹端異形成症が発症する⁴⁾。以上のことから、IX型コラーゲンは軟骨組織の恒常性の維持に貢献していることが強く示唆されている。

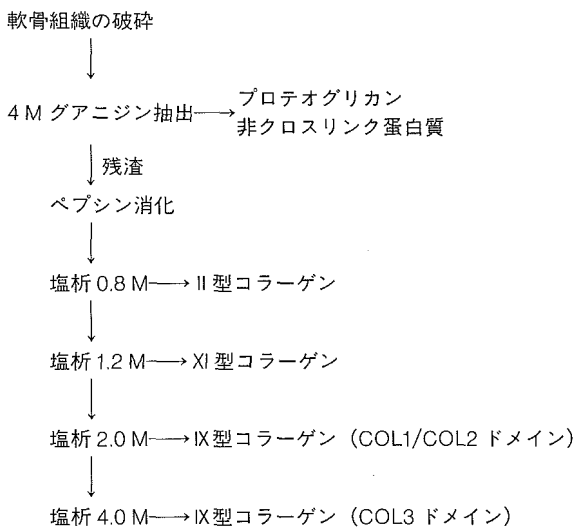
3. 軟骨コラーゲン解析

その後、腰椎疾患と相関する2つのIX型コラーゲン遺伝子多型が北欧の研究室より報告された⁵⁾⁶⁾。これらの遺伝子多型はIX型コラーゲンにトリプトファンを導入するミスセンス変異であるが、コラーゲンには通常トリプトファン残基が存在しないこともあり、注目された。IX型コラーゲン分子は異なる3つの遺伝子（COL9A1, COL9A2, COL9A3）によってコードされる3本の α 鎖 [$\alpha 1$ (IX), $\alpha 2$ (IX), $\alpha 3$ (IX)] が三重らせんを形成するヘテロトリマーである。その構造はC末端からCOL1, COL2, COL3とよばれる3つのコラーゲンドメインとNC1, NC2, NC3, NC4とよばれる4つの非コラーゲンドメインからなる（図③）。トリプトファン遺伝子多型の1つは分子中央のCOL2ドメインをコードす



図④ IX型コラーゲン分子の構造

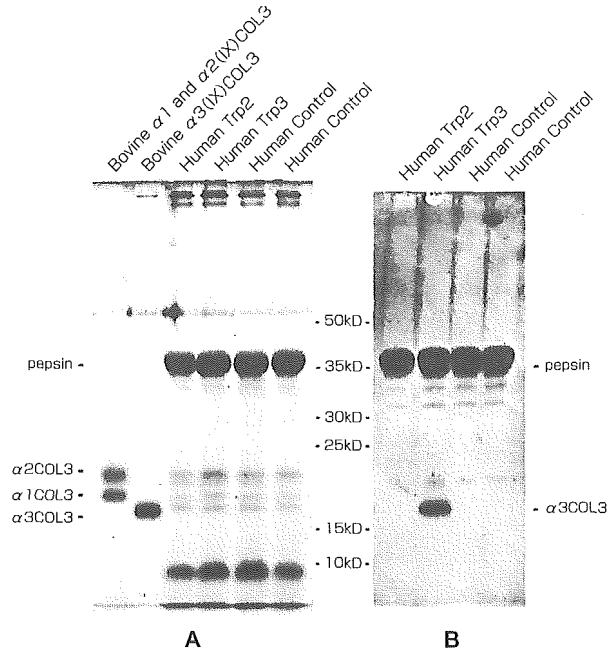
IX型コラーゲン分子はコラーゲンドメイン (COL 1, COL 2, COL 3) と非コラーゲンドメイン (NC 1, NC 2, NC 3, NC 4) より構成される。NC 2, NC 3 はヒンジのようにはたらいIX型コラーゲン分子が折れ曲がった構造を取ることを許していると考えられている。



図④ 軟骨コラーゲン解析

4 M グアニジン抽出残渣にペプシン消化をおこない塩析により各種コラーゲンを分離、精製する。

る領域における COL9A2 遺伝子の変異, 他方は N 末端の COL 3 ドメインをコードする領域における COL9A3 遺伝子の変異である。筆者らはトリプトファン遺伝子多型の軟骨コラーゲンネットワーク形成への影響を調べる目的で, ヒト骨端軟骨における IX 型コラーゲン解析をおこなった⁷⁾。4 M グアニジン抽出によりプロテオグリカンを含む非クロスリンク蛋白質を抽出した残渣にペプシン消化をおこない, 塩析によって II 型, XI 型, IX 型コラーゲンを分離, 精製した(図④)。その結果, IX 型コラーゲンの COL 2, COL 3 ドメインは, トリプトファン遺伝子多型の有無により明らかな差はなく軟骨コラーゲンマトリックスに取り込まれていることが明らかになった(図



図⑤ IX型コラーゲン解析 (COL 3 ドメイン) (Matsui Y et al : Matrix Biology 22 : 123-129, 2003 より引用)

A : ペプシンにて可溶化された IX 型コラーゲンの塩析 4.0 M 沈渣を 12.5% PAGE に展開した。COL9A2 のトリプトファン多型 (Trp 2), COL 9A3 のトリプトファン多型 (Trp 3), コントロールのいずれにおいても COL 3 ドメインのバンドが認められた。
B : Trp 3 の合成ペプチドに対するポリクローナル抗体は, ウェスタンブロット法にて Trp 3 の COL 3 ドメインに反応した。

⑤)。さらに, CNBr 消化と HPLC を組み合わせたペプチドマッピングをおこなったところ, IX 型コラーゲンのクロスリンクにも明らかな相違は認められなかった。なお, COL 2, COL 3 ドメインのバンドを切り出してゲル内トリプシン消化をおこない, マススペクトロメトリーにより解析した結果, トリプトファン遺伝子多型の IX 型コラーゲンではトリプトファン残基の発現が確認されている(未発表)。以上のことから, トリプトファン遺伝子多型は軟骨コラーゲンネットワークの形成には明らかな影響を与えないものと思われた。そして, トリプトファンを含む破格な IX 型コラーゲンが軟骨コラーゲンネットワークに取り込まれて存在することが, 軟骨組織の恒常性の維持においてマイナスに作用している可能性が示唆されるに至っている。

おわりに

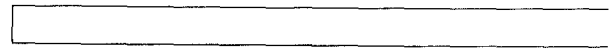
軟骨コラーゲンを例に運動器疾患の蛋白質解析を概説した。現在まで数多く報告されてきた運動器疾患における遺伝子異常も遺伝子多型も、実際に疾患を発現する分子機序の少なくとも一部は組織の蛋白質解析によって解明されるであろう。分子細胞生物学実験に比べるとまだまだ時間がかかるステップは多いが、病態解明と疾患制圧への道程に不可欠なこの領域に一人でも多い研究者の参入が期待される。



文 献

- 1) Wu JJ, Woods PE, Eyre DR *et al* : Identification of cross-linking sites in bovine cartilage type IX collagen reveals an antiparallel type II-type IX molecular relationship and type IX to type IX bonding. *J Biol Chem* **267** : 23007-23014, 1992
- 2) Nakata K, Ono K, Miyazaki J *et al* : Osteoarthritis associated with mild chondrodysplasia in transgenic mice expressing $\alpha 1$ (IX) collagen chains with a central deletion. *Proc Natl Acad Sci USA* **90** : 2870-2874, 1993
- 3) Kimura T, Nakata K, Tsumaki N *et al* : Progressive degeneration of articular cartilage and intervertebral discs. An experimental study in transgenic mice bearing a type IX collagen mutation. *Int Orthop* **20** : 177-181, 1996
- 4) Muragaki Y, Mariman EC, van Beersum SE *et al* : A mutation in the gene encoding the alpha 2 chain of the fibril-associated collagen IX, COL9A2, causes multiple epiphyseal dysplasia (EDM 2). *Nat Genet* **12** : 103-105, 1996
- 5) Annunen S, Paassilta P, Lohiniva J *et al* : An allele of COL 9 A 2 associated with intervertebral disc disease. *Science* **285** : 409-412, 1999
- 6) Paassilta P, Lohiniva J, Goring HH *et al* : Identification of a novel common genetic risk factor for lumbar disc disease. *JAMA* **285** : 1843-1849, 2001
- 7) Matsui Y, Wu JJ, Weis MA *et al* : Matrix deposition of tryptophan-containing allelic variants of type IX collagen in developing human cartilage. *Matrix Biol* **22** : 123-129, 2003

THE BONE 別刷



(株)メディカルレビュー社

〒541 大阪市中央区平野町 1-7-3 吉田ビル TEL 06-6223-1468
〒113 東京都文京区湯島 3-19-11 イトピア湯島ビル TEL 03-3835-3041



低身長をきたす疾患

骨幹端の異常を特徴とする疾患

Skeletal dysplasias with predominant metaphyseal involvement

松井 好人

Yoshito Matsui (助手) / 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部運動機能外科学

key words

軟骨内骨化
成長軟骨板
長管骨
軟骨細胞分化
軟骨石灰化
一次骨梁形成

骨幹端は四肢長管骨の長軸成長を担う軟骨内骨化の過程において、軟骨細胞の最終分化(肥大化)に続く軟骨の石灰化と一次骨梁の形成が起こる部位である。骨幹端の異常を特徴とする先天性骨系統疾患は、軟骨細胞分化の異常や、軟骨の石灰化と一次骨梁形成の異常を通じて低身長をきたすものと考えられ、その分子機構が次第に明らかにされつつある。

はじめに

四肢長管骨の長軸成長は、成長軟骨板での軟骨内骨化によって起こる。長管骨はその部位により骨幹部、骨幹端部、骨端部に分類されるが、骨幹端部は成長軟骨板での軟骨内骨化の過程において、軟骨細胞の最終分化(肥大化)に続く軟骨の石灰化と一次骨梁の形成が起こる場所に相当する。したがって、①軟骨細胞分化の異常、および②軟骨の石灰化と一次骨梁形成の異常により骨幹端の異常が生じるものと考えられる。本稿では低身長をきたす先天性骨系統疾患のうち、骨幹端の異常を特徴とするものを、①軟骨細胞分化の異常と②軟骨の石灰化と一次骨梁形成の異常によるものの二つに大別し、代表的

疾患についてその病態を概説する。

軟骨細胞分化の異常

近年の骨代謝研究の進展により、成長軟骨板での軟骨内骨化がホルモンなどの全身の因子や成長因子などの局所的因子により時間的および空間的に制御される機構が明らかになりつつある。そして、低身長をきたす先天性骨系統疾患の少なくとも一部では、その原因や病態が分子レベルで説明可能となってきた。

1. 骨幹端異形成症 Jansen 型
(metaphyseal dysplasia,
Jansen type)
軟骨細胞の増殖や分化に関与する成

長因子のうち、副甲状腺ホルモン関連蛋白質 (parathyroid hormone-related protein : PTHrP) は、副甲状腺ホルモン (PTH) と共通の G 蛋白共役型受容体である PTH/PTHrP 受容体を介して成長軟骨に作用を発現する。PTH/PTHrP 受容体の機能亢進型変異が骨幹端異形成症 Jansen 型で見つかっており、高度な四肢短縮型低身長の原因は長管骨の成長軟骨板における軟骨細胞の分化抑制であると理解されている¹⁾。それは、PTHrP や PTH/PTHrP 受容体のノックアウトマウスでは軟骨細胞の分化が亢進してアポトーシス細胞が増加することから、PTHrP や PTH/PTHrP 受容体は軟骨細胞の分化に対して抑制的に働くと考えられるためである²⁾³⁾。骨幹端異形

成症 Jansen 型は稀な疾患で、乳児期に眼球突出などの特徴的顔貌や低身長により気付かれる。X線像をみると、骨幹端は不整かつ膨化しており、長管骨の短縮と変形が著明である。また、成人身長は130cmに達しないようである。

2. 軟骨無形成症・軟骨低形成症 (achondroplasia, hypochondroplasia)

線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor : FGF) は現在までに23種類が報告されており、5種類のチロシンキナーゼ型受容体 (FGF receptor : FGFR) を介して細胞の増殖や血管新生に関与する。軟骨無形成症や軟骨低形成症の原因遺伝子として同定された FGFR3 のノックアウトマウスでは、成長軟骨板における軟骨細胞の増殖が亢進し、長管骨の過成長が観察されることから、FGFR3 は軟骨細胞の増殖に対して抑制的に働くと考えられている⁴⁾。さらに、軟骨無形成症の原因となる G380R (380番目のアミノ酸であるグリシンがアルギニンに置換される) 変異を導入した FGFR3 を成長軟骨に発現させたトランスジェニックマウスでは、FGF の結合に関係なく FGFR3 のチロシンリン酸化が生じるために軟骨細胞の増殖が抑制されることが示されている⁵⁾。すなわち、軟骨無形成症では FGFR3 が常時活性化しているために成長軟骨板において軟骨細胞の増殖が抑制され、四肢短縮型の低身長をきたすものと理解される。軟骨無形成症は2万人に1人の頻度で発生



図1 FGFR3のG380R変異を有する軟骨無形成症の9歳男児のX線像
長管骨骨幹端の杯状陥凹が認められる。腓骨は脛骨に対して過長である。

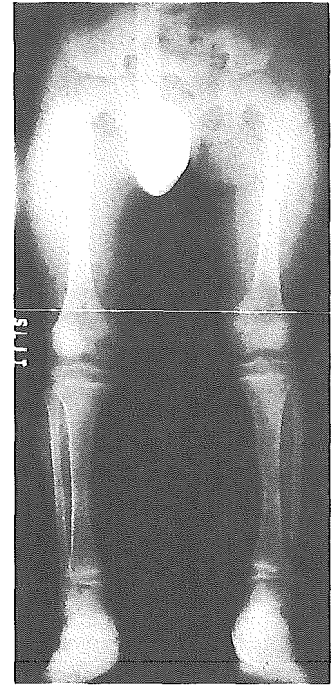


図2 FGFR3のN540K変異を有する軟骨低形成症の9歳男児のX線像
長管骨骨幹端の異常は軽度である。

し、出生後比較的早期に前頭部・下顎の突出、鼻根部陥凹などの特徴的顔貌や四肢短縮により気付かれる。X線像の特徴として、骨幹端の杯状陥凹が目立つ太く短い長管骨があげられ、腓骨は脛骨に対して過長である(図1)。また、腰椎正面X線像の椎弓根間距離は正常では尾側ほど大きくなるが、軟骨無形成症では軟骨内骨化異常により逆に小さくなるので診断上有用である。一方、軟骨低形成症の病態は軟骨無形成症に似るが、軽症の四肢短縮型低身長をきたす疾患で、幼児期から学童期に低身長により気付かれる。顔貌

やX線像の特徴は明らかでなく、長管骨における軽度の骨幹端異形成がみられるのみである(図2)。軟骨無形成症との鑑別を要する重症例から正常低身長と鑑別困難な軽症例まで重症度に幅があり⁶⁾、比較的頻度の高い疾患であると考えられている。軟骨無形成症のほぼ全例が FGFR3 の G380R 変異によるのに対し、軟骨低形成症で最も多くみられる FGFR3 の N540K (540番目のアミノ酸であるアスパラギンがリジンに置換される) 変異がみつかるのは半数以下である。なお、成人身長は G380R 変異を有する軟骨無形成症で

およそ120cm, N540K 変異を有する軟骨低形成症でおよそ140cmである。FGFR3の N540K 変異以外の変異は頻度が低く, 比較的軽症の症例で見つかる傾向がある⁷⁾。さらに, 同定可能なFGFR3変異がない“軟骨低形成症”も少なからず報告されていることから, 遺伝的異質性の存在が示唆される⁸⁾。

軟骨の石灰化と一次骨梁形成の異常

成長軟骨板における軟骨の石灰化は, 軟骨細胞が肥大化した後に, II型およびX型コラーゲンを主とする軟骨基質にカルシウムとリンを中心とするミネラル(骨塩)が沈着して生じる。その機序として提唱されている基質小胞説によれば, 肥大軟骨細胞から放出された基質小胞の中でカルシウムとリンは濃縮される一方, 石灰化を阻害するピロリン酸は分解され, 結晶化したハイドロキシアパタイトがコラーゲン線維上に沈着するのだという。成長軟骨における軟骨の石灰化障害は, 軟骨基質が生成されているにもかかわらずミネラルが沈着できず, 非石灰化軟骨基質が増加した状態であり, その結果, 一次骨梁の形成が障害されて成長軟骨板における軟骨内骨化不全を呈する。X線では成長軟骨板の肥大軟骨と一次骨梁の部位に一致して骨幹端の異形成が認められる。

成長軟骨における軟骨の石灰化障害をきたす先天性疾患としてはビタミンD作用不全や低リン血症によるくる病, 血清アルカリフォスファターゼ(alkaline phosphatase : ALP)活性の低

下を特徴とする低フォスファターゼ症がある。また, 石灰化を生じる軟骨の細胞外マトリックス成分であるX型コラーゲン変異が原因と考えられている骨幹端異形成症 Schmid 型についても触れる。

1. くる病(rickets)

ビタミンD作用不全により惹起される先天性疾患としては, 25(OH)-1 α 水酸化酵素の遺伝子異常により1 α 水酸化酵素の活性が低下してビタミンDの活性化障害が生じるビタミンD依存性くる病I型と, ビタミンD受容体遺伝子の異常によりビタミンDの作用不全が起こるビタミンD依存性くる病II型があげられる。他方, 低リン血症性ビタミンD抵抗性くる病は, 尿細管におけるリンの再吸収を阻害する因子により引き起こされる。その原因として, phosphate regulating gene with homologies with endopeptidases on the X chromosome (PHEX) 遺伝子の変異や FGF23遺伝子の変異がみつまっている⁹⁾¹⁰⁾。FGF23は尿細管におけるリンの再吸収を阻害する作用を有し, PHEXによる分解を受けてリンの再吸収が調節されているものと考えられている。したがって, FGF23遺伝子の変異はPHEXによる分解に対する抵抗性の獲得, PHEX 遺伝子の変異は FGF23の分解能の喪失を生じ, 結果として FGF23の作用が強まり低リン血症を生じている可能性がある。実際に, X染色体性低リン血症性ビタミンD抵抗性くる病患者の血中では FGF23の濃度が上昇しているとする

報告もある¹¹⁾。くる病のX線所見は原因のいかんによらず共通の特徴を有し, 骨幹端の異常として不整や杯状陥凹を呈する。

2. 低フォスファターゼ症 (hypophosphatasia)

低フォスファターゼ症は組織非特異的ALP (tissue-nonspecific ALP : TNSALP) 遺伝子の異常により引き起こされ, 血清ALP活性の低下を特徴とする¹²⁾。本症は発症時期および症状から5つの病型, すなわち周産期致死型, 乳児型, 小児型, 成人型, 歯限局型に分けられるが, 低身長が問題となるのは主に小児型である。X線では骨の低石灰化と骨幹端異形成を呈するが, ALPの活性低下が骨の石灰化を障害する機序は十分には明らかにされていない。ALPの活性低下に伴い増加するピロリン酸による石灰化抑制作用や, 局所のリン濃度の低下が関与しているものと推測されている。

3. 骨幹端異形成症 Schmid 型 (metaphyseal dysplasia, Schmid type)

X型コラーゲンは成長軟骨板の肥大軟骨層に特異的に存在する細胞外マトリックス成分であり, その機能はいまだ十分には明らかにされていないものの, 軟骨の石灰化に関与している可能性がある。正常X型コラーゲンは3本の α 鎖によるホモ三量体として分泌されるが, 骨幹端異形成症 Schmid 型ではコラーゲン三量体の形成に重要なC末の非コラーゲン部分



図3 X型コラーゲンのC末にフレームシフト変異を有する骨幹端異形成症 Schmid 型の3歳女児のX線像
大腿骨近位で骨幹端の不整が認められ、内反股変形が存在する。

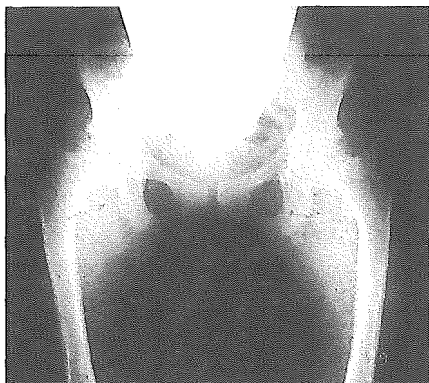


図4 X型コラーゲンのC末にG595R変異を有する骨幹端異形成症 Schmid 型の14歳女児のX線像
内反股変形が存在する。

に変異が見つかることが多い⁵⁾⁸⁾¹³⁾¹⁴⁾。変異X型コラーゲンの α 鎖はホモトライマーの形成に参加できないために、成長軟骨板の肥大軟骨層ではX型コラーゲン量が不足することが予測され、その結果として骨幹端異形成を呈するものと理解される¹⁵⁾。骨幹端異形成症

Schmid型は比較的頻度の高い疾患であると考えられており、歩行開始後にO脚と四肢短縮型低身長によりみつけることが多い。低身長の程度は軽く、成人身長はおおよそ150cmほどである。X線像は軽症のくる病に類似しており、主に膝と大腿骨近位で骨幹端の不整が

認められる。O脚の原因にもなる内反股の存在は診断上重要な所見である(図3, 4)。

おわりに

低身長をきたす疾患のうち骨幹端の異常を特徴とするものは、本稿で紹介した以外にも多数存在する¹⁶⁾。たとえば、RNase mitochondrial RNA processing (RMRP) 遺伝子の異常による骨幹端異形成症 McKusick 型(軟骨毛髪異形成症)、Shwachman-Bodian-Diamond syndrome (SBDS) 遺伝子の異常による Schwachman Diamond 症候群、窒息性胸郭異形成症、Ellis-van Creveld 症候群(軟骨外胚葉異形成症)、頭蓋外胚葉異形成症などである。これらの疾患の病態は現時点では十分に解明されていない。

文献

- 1) Schipani E, Kruse K, Juppner H: A constitutively active mutant PTH-PTHrP receptor in Jansen-type metaphyseal chondrodysplasia. *Science* **268**: 98-100, 1995
- 2) Lanske B, Karaplis AC, Lee K, et al: PTH/PTHrP receptor in early development and Indian hedgehog-regulated bone growth. *Science* **273**: 663-666, 1996
- 3) Vortkamp A, Lee K, Lanske B, et al: Regulation of rate of cartilage differentiation by Indian hedgehog and PTH-related protein. *Science* **273**: 613-622, 1996
- 4) Deng C, Wynshaw-Boris A, Zhou F, et al: Fibroblast growth factor receptor 3 is a negative regulator of