

3. 研究結果及び考察

1989年2月から2005年3月までの腎移植症例325例のうち、IONのスクリーニングを施行できた211例を対象とした。IONの発生は35例に認められた。非発生例は176例であった。調整オッズ比(Adjusted odds ratio、以下OR)は、移植時年齢が1歳上がる毎にOR=1.05(95%CI:1.01-1.08、p=0.018)と有意なリスク上昇を認めた。術後28日までのプロトコール別ステロイド総投与量では、small(815mg)に比べて、middle(895mg)ではOR=2.40(95%CI:0.74-7.79、p=0.145)、large(1015mg)ではOR=3.20(95%CI:1.01-10.1、p=0.048)であり、largeで有意なリスク上昇を認めると共に、量反応関係も境界域の有意差を示した(p=0.050)。

シクロスポリン(vs. タクロリムス)でOR = 1.58(p = 0.245)、死体腎(vs. 生体腎)でOR = 1.30(p = 0.714)、急性拒絶反応に対するパルス投与(vs. パルス投与なし)はOR = 0.72(p = 0.552)、HLA マッチング数3-6(vs. <3)でOR = 0.86(p = 0.796)となり、これらの項目については有意な関連を認めなかった。

4. 評価

1) 達成度について

追跡症例につき、単変量解析と多変量解析を行い、各要因の独立した影響を明らかに出来た点で、目標を達成できた。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

MRIによるスクリーニングによってION“発生”症例を把握し、その“発生”に対するリスク因子を多変量解析の手法で明らかにしている点で、学術的価値は高い。

3) 今後の展望について

ステロイド投与量によるリスク上昇を明らかにしている。ION発生の予防という観点から、この量反応関係をより詳細に解明することが今後の課題である。

4) 研究内容の効率性について

確立された手法に則った腎移植症例の追跡とMRIによるスクリーニングであり、今後症例を蓄積しながらリスク因子を明らかにしていく点で、効率性に優れた研究である。

5. 結論

手術時年齢が高い、術後28日までのステロイド総投与量が多いことは、ION発生のリスクを上昇させた。免疫抑制剤、パルス投与との関連は認めなかった。

B. 臓器移植後大腿骨頭壊死症 (病態 I) (担当:長谷川幸治)

臓器移植術の普及によって晩期合併症の一である大腿骨頭壊死症の総数が急速に増加している。このため臓器移植が成功しても、大腿骨頭壊死症の発症によって股関節機能が破壊され、日常生活動作(ADL)の著明な障害だけでなく、生活の質(QOL)も著しく障害される。腎移植や骨髄移植などでも約10-20%が骨頭壊死を発生することを明らかにしてきた。大腿骨頭壊死症の病態についてはいまだ明らかではないが、凝固・線溶系、脂質代謝の異常の関与が報告されている。よりよい移植医療をわが国民に提供するために、移植患者が多い腎臓、肝臓、骨髄移植患者に対する大腿骨頭壊死危険因子を同定し、その予防法・治療法を確立する必要がある。臓器移植グループでは臓器移植により発生する大腿骨頭壊死の病態解析を進めるために臓器移植における大腿骨頭壊死症の研究をおこなった。

腎移植患者の骨壊死発生の危険因子の研究では、大腿骨頭壊死症を8例、大腿骨頭部壊死症を5例に認め、合計11例に骨壊死の発生を認めた。骨壊死の発生頻度は4.7%であった。単変量解析の結果、年齢、性別、体重、免疫抑制剤では有意なodds ratio(以下OR)の変化は認めなかった。死体腎ではOR=5.05倍と有意なORの上昇を認めた。移植腎機能との関連では移植後1週以内に透析を要するdelayed graft function(DGF)でOR=8.19倍と有意な上昇を認めた。

また腎移植患者の骨壊死発生の危険因子の別の研究では、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、症例、対照間で有意差は認められなかった。免疫抑制剤の種類とION発生、またはステロイド投与プロトコールとION発生に有意な関連があった。

遺伝子多型と骨壊死の研究では、Lp(a) phenotypeとION発生との間に有意な関連を認め、分子量の小さいphenotypeでION発生のriskが上昇することが判明した(adjusted OR=6.03)。またApoB遺伝子のC7623TでION発生との間に強い関連を認め、T alleleを含む

症例でION発生のriskが上昇することが判明した (adjusted OR=6.37)。ApoB遺伝子を併せて3遺伝子の遺伝子多型とIONとの関連が明らかになったため、これら3遺伝子の組合せとIONとの関連を解析した。ABCB1がTC+CCで、CBPがAGの症例では、OR=22.91と有意な上昇を認めた。

肝移植における骨壊死発生の中では、臨床的に股関節障害が生じたのは、移植後1年で発生した大腿骨頸部骨折の1例のみである。現時点では移植後骨壊死症が発症した症例は1例も認めず、骨壊死症は肝移植後の臨床的問題点とはなっていない。骨髄移植後の骨壊死に対する人工関節の成績はION全体と変わらなかった。

臓器移植患者のADL, QOLを向上させるために、今後さらに症例を蓄積し危険因子を同定し、先端医療である臓器移植医療に還元する必要がある。

1. 研究目的

特発性大腿骨頭壊死症は大腿骨頭が阻血性壊死に陥り、股関節機能が失われる難治性疾患である。臓器移植術の普及によって晩期合併症の一つの大腿骨頭壊死症の総数が増加している。このため臓器移植が成功しても、大腿骨頭壊死症の発症によって股関節機能が破壊され、日常生活動作 (ADL) の著明な障害だけでなく、生活の質 (QOL) も著しく障害される。移植臓器が GVHD (移植片対宿主病) によって拒絶反応を起こす場合には、大量のステロイド療法や免疫調節剤が使用される。その結果として、生命や臓器が救済されても、晩期合併症としての大腿骨頭壊死を約 10-20% 発生する。大腿骨頭壊死症は股関節の破壊によって著しい関節の障害を生ずる。したがって、その原因を究明することで、さらに臓器移植後の患者の ADL, QOL を向上させることが可能である。

研究班では腎移植や骨髄移植などでも約 10-20% が骨頭壊死を発生することを明らかにしてきた。大腿骨頭壊死症の病態についてははまだ明らかではないが、凝固・線溶系、脂質代謝の異常の関与が報告されている。遺伝子の検討では、現在までに輸送タンパクの ATP binding cassette B1 (ABCB1) 遺伝子と受容体の cAMP-response element binding protein-binding protein (CBP) 遺伝子において、腎移植症例の特発性大腿骨頭壊死の発生との関連も報告されている。このため臓器移植による大腿骨頭壊死症は、重要な課題と考えて研究を継続してきた。移植臓器は

腎臓、骨髄、肝臓、心臓、肺などで行われている。従来は原疾患が泌尿器科、移植外科、心臓外科、外科、血液内科などで治療され、大腿骨頭壊死症として整形外科で診断されるまでに時間を要した。最近は各科との緊密な連携によって骨頭壊死の危険因子を同定して、各科に結果を還元することでより安全で効果がある移植医療の治療体系が構築されつつある。しかし未だ各患者にあった治療体系は完備しているとは言いがたい。このため移植患者が多い腎臓、肝臓、骨髄移植患者に対する大腿骨頭壊死危険因子を同定し、その予防法・治療法を確立する必要がある。臓器移植グループでは臓器移植により発生する大腿骨頭壊死の病態解析を進めるために以下の 5 つの研究をおこなった。

1) 骨壊死発生の危険因子について

(高尾、菅野、吉川ら)

腎移植患者の骨壊死の発生頻度は MRI を用いた prospective screening で 4.0-13.7% と報告され、その発生時期は移植後早期の 2-12 週と報告されている。その一方、腎移植患者の骨壊死発生の危険因子を移植後早期に着目して解析した報告は少ない。本研究の目的は腎移植後の骨壊死発生の危険因子を移植後早期の投与薬剤、腎機能に着目して調査することである。移植後の平均入院期間が 6-8 週のため、今回調査期間を詳細な経過が把握しやすい 6 週とした。

2) 腎移植後大腿骨頭壊死症の統計解析

(柴谷、久保ら)

腎移植患者の骨頭壊死症の危険因子を同定することを目的とした。

3) ステロイド性大腿骨頭壊死症の遺伝子多型解析

(平田、久保ら)

Lp(a)、ApoBそしてApoA1の遺伝的多形性、血中Lp(a)濃度および血中脂質濃度(LDH、HDL、ApoB、ApoA1、TG、TC)を測定し、腎移植後IONの発生群(症例)と非発生群(対照)間で比較することを目的とした。

4) 肝移植後の特発性大腿骨頭壊死症

(堀内、小林ら)

生体肝移植後の骨壊死の頻度について検討

することを目的で、信州大学第一外科でおこなわれた肝移植症例を臨床的に調査した。

5) 髄移植後大腿骨頭壊死に対する人工股関節置換術(山口、長谷川ら)

骨髄移植後の骨頭壊死の治療としての人工関節の耐用性を評価する目的で、人工股関節置換術の治療成績を調査した。

2. 研究方法

腎臓、肝臓、骨髄移植を行っている研究班施設の患者を登録して患者背景、原疾患、治療内容、骨頭壊死発症診断、治療経過(ステロイド使用量、免疫調節剤使用量)について解析する。最も先行した研究が行われている腎移植で患者の危険因子を同定した。肝移植は生体肝移植を対象として骨頭壊死の発症頻度と危険因子の同定をした。骨髄移植では人工関節置換となった患者背景、原疾患、治療経過(ステロイド使用量、免疫調節剤使用量)などについて検討した。

1) 腎移植患者の発症にかかわる危険因子の解析(高尾、菅野, 吉川ら)

1986年から2003年に当院で腎移植をおこなった332例のうち、233例(70.2%)に両股関節、両膝関節のMRIスクリーニングをおこなった症例を対象とした。11例(4.7%)に骨壊死発生を認めた。入院中の移植チャートをもとに、性、移植時年齢、体重、移植腎の種類(死体腎、生体腎)、免疫抑制剤の種類、ステロイド総投与量(移植後6週)(プレドニゾロン換算)、メチルプレドニゾロン大量静注量、回数、プレドニン1日平均投与量を調査した。また、移植後早期の腎機能として、delayed graft function(DGF;移植腎の機能獲得が遅延し移植後1週間以内に透析を要する場合)の有無を調査した。移植後後期の腎機能として移植後6週のCr/BUN濃度を調査し、急性拒絶反応の有無も腎生検結果をもとに調査した。骨壊死発生に関連する因子を検出するためロジスティック回帰モデルによるodd ratio (OR)の算出をおこなった。

2) 腎移植症例に対して特発性大腿骨頭壊死症のスクリーニングを行なった症例にたいして統計解析症例(柴谷、久保ら)

特発性大腿骨頭壊死症発生リスクに関与する因子

の多変量解析を用いて検討した。性別、移植時年齢、移植腎の種類(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、ステロイド投与量について情報を収集した。Cyclosporine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。さらに1996年と2002年を境に、ステロイド投与量を減量するプロトコルを導入した。本検討ではCyclosporine導入後の3つのプロトコル(大量、中等量、少量)別に患者を分類した。

3) 腎移植後大腿骨頭壊死症の統計解析

腎移植後にION発生が確認され、定期的に当院に通院している34例のION患者を症例とし、移植後1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)、骨シンチグラムで全身に骨壊死が発生していないことを確認した患者124例を対照とした。apo(a)、ApoBおよびApoA1遺伝子のSNP解析、

apo(a) phenotype分類、血中Lp(a)濃度、リポ蛋白質や脂質の血中濃度とION発生との関連を検討した。また、ApoBとApoA1のSNPsと血中脂質濃度との関連についても調査した。Lp(a)の濃度に影響を与えているとされる3つのsingle nucleotide polymorphisms(SNPs)、Lp(a) phenotype、そして血中Lp(a)濃度を測定し、ION発生との関連を検討した。

4) 肝移植後の特発性大腿骨頭壊死症

肝移植症例は2005年1月までに222例(小児例103、成人例119例)の肝移植がおこなわれた。大腿骨頭壊死症の発生を評価した。

5) 骨髄移植後の人工関節症例

骨髄移植(BMT)後の特発性大腿骨頭壊死症に対し、人工股関節置換術が行われた症例の臨床及びX線評価をした。対象は人工股関節置換術(THA)/人工骨頭置換術(BHA)が行われた9例/12股で、初回手術時平均年齢32.6歳(20~51歳)、女性4例/5股・男性5例/7股、平均経過観察期間は9.4年であった。原因疾患の内訳は、急性骨髄性白血病3例・急性リンパ性白血病1例・慢性骨髄性白血病1例・非ホジキン悪性リンパ腫2例・再生不良性貧血1例・骨髄異型性症候群1例であった。セメントレス臼蓋コンポーネントはOsteonics 6股、セメント臼蓋コンポーネントはCharnley 3股、バイポーラーコンポーネントは京セラ

製2股・Osteonics 1股、セメントレス大腿コンポーネントはOmniflex 5股・Omnifit2股、セメント大腿コンポーネントはCharnley 3股・京セラ製2股であった。各研究機関では患者の個人情報には十分配慮した。

3. 研究結果及び考察

1) 腎移植患者の骨壊死発生の危険因子

大腿骨頭壊死症を 8 例、大腿骨頸部壊死症を 5 例に認め、合計 11 例に骨壊死の発生を認めた。骨壊死の発生頻度は 4.7%であった。単変量解析の結果、年齢、性別、体重、免疫抑制剤では有意な odd ratio(OR)の変化は認めず、死体腎で有意な OR の上昇を認め、OR は 5.05 倍(95%CI;1.39-19.5)であった。ステロイド投与量は、ステロイド総投与量(プレドニゾン換算)、メチルプレドニゾン大量静注量、回数、プレドニン1日平均投与量いずれにおいても有意な OR の変化を認めなかった。移植腎機能との関連では移植後 1 週以内に透析を要する delayed graft function(DGF)で有意な OR の上昇を認め、OR は 8.19 倍(95%CI;2.27-29.4)であった。移植後 6 週のクレアチニン濃度、BUN 濃度も有意差を認め OR はそれぞれ 1.60 倍(95%CI; 1.12-2.30)、1.45 倍(95%CI;1.14-1.85)であった。急性拒絶反応では有意な OR の変化を認めなかった。単変量解析で有意なリスク因子であった死体腎と境界域の有意差を示したステロイド総投与量にて多変量解析したところ DGF で有意な OR の上昇を認め OR は 6.41 倍(95%CI; 1.21-33.3)であった。DGF は全 233 症例の 19.4%にあたる 46 例に認め、DGF 症例の骨壊死発生頻度は 15.2%、非 DGF 症例では 1.3%であった。

単変量解析、多変量解析の結果、移植腎の機能獲得が遅延し移植後 1 週以内に透析を要する DGF 症例で骨壊死発生のリスクが高かった。DGF は移植腎の reperfusion injury や急性拒絶反応が主な原因とされているが、遺伝的な凝固線溶系障害も関連するとも報告され、急性拒絶反応を続発しやすいことも報告されている。DGF を示す症例はその背景に骨壊死発生と関連する因子有しているものが多く、その結果骨壊死発生のハイリスク群となっている可能性が考えられた。ステロイド投与量と骨壊死発生に関しては、単変量解析では総投与量、大量静注量、回数では境界域の有意差を示したが、死腎移植や DGF で補正した多変量解析では有意ではなかった。症例数が 11 と少ないので、今後症例数の増加とともにさらに検

討が必要であると考えられた。

2) 腎移植症例に対して特発性大腿骨頭壊死症

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、症例、対照間で有意差は認められなかった。免疫抑制剤の種類とION発生との比較(p=0.027)、またはステロイド投与プロトコールとION発生との比較(p=0.021)で有意な関連があった。

3) ステロイド性大腿骨頭壊死症の遺伝的多型解析の結果

Lp(a) phenotypeとION発生との間に有意な関連を認め、分子量の小さいphenotypeでION発生のriskが上昇することが判明した(adjusted odds ratio=6.03、p=0.0018)。またApoB遺伝子のC7623TでION発生との間に強い関連を認め、T alleleを含む症例でION発生のriskが上昇することが判明した(adjusted odds ratio=6.37、p=0.011)。今回報告したApoB遺伝子を併せて3遺伝子の遺伝子多型とIONとの関連が明らかになったため、これら3遺伝子の組合せとIONとの関連を解析した。ABCB1がTC+CCで、CBPがAGの症例では、odds ratio(OR)が22.91となり、有意なORの上昇を認めた。交互作用の指標となるSynergy indexが1.99(>1)であったため、ABCB1遺伝子とCBP遺伝子の間に交互作用が存在することが判明した。その他にも虚血性心疾患などの血管病変との関連が報告されている10種類のSNPとIONとの関連について解析を行ってきたが、ION発生との間に有意な関連を認めなかった。

4) 肝移植後の骨頭壊死の結果と考察

臨床的に股関節障害が生じたのは、移植後1年で発生した大腿骨頸部骨折の1例のみである。現時点では移植後骨壊死症が発症した症例は1例も認めていない。骨壊死症は現時点では肝移植後の臨床的問題点とはなっていない。

5) 骨髄移植術後の骨頭壊死症に対する人工関節

JOAスコアは術前平均56.5点から術後平均86.5点に改善した。X線的破綻は臼蓋カップに1例/1股(1/9, 11.1%)、大腿ステムに2例/2股(2/12, 16.7%)を認めた。再置換症例はなかつ

た。また感染などの合併症の発生もなかった。ION全体に対するTHA/BHA手術後の臨床成績は特発性大腿骨頭壊死症調査研究分科会における多施設調査による報告では、IONに対するTHA/BHA成績は術後16年で 臼蓋/9.7% 大腿/8.6%が再置換術となり(12施設・初回THA/BHA549関節)、IONのTHAの耐用性は大腿コンポーネントに差は無かったが、ソケットはOAより劣った(9施設・初回THA612関節/平均経過観察期間10年)と報告されている。これらの報告からは臼蓋側骨強度がIONはOAに比べ低値であることやION患者は若年者が多いことが原因として示唆された。

骨髄移植は、retrospective studyでの壊死発生率は19/100例(19%)であった。4つの危険因子は慢性GVHDの発生、年齢(若年者)、ステロイド総投与量、ステロイドパルス療法であった。prospective studyによって壊死発生率は4/30例(13.3%)であった。より治療成績を上げるために骨髄移植の方法が変更され、今後は治療法の差による骨壊死発生率の検討が必要である。

また一般に、BMT後発症IONは治療に用いるステロイド使用量が多い。BMTにおいては約3000~50000mg/PSL換算のステロイド量を投与するのに対し、SLEでは約500mg~3000mg/PSL換算のステロイド投与量である。同種BMT後骨密度は10gPSL使用で9%低下し、また同種BMTは自家BMTと比べて有意に骨密度が低下と述べている。更にBMT後ION患者は若年発生が多く活動量が大きい。特発性大腿骨頭壊死症調査研究分科会でのION発症後THA患者平均年齢が平均48.7歳であるのに対し、本研究平均年齢は32.6歳であった。これらの事からBMT後IONはTHA/BHA成績は早期にlooseningを来す可能性が考えられた。しかしながら、本研究の結果からはBMT後IONに対するTHAの成績はION全体と変わらなかった。

4. 評価

1) 達成度について

今年度における目標の達成度

腎移植における骨壊死発生の危険因子は同定できほぼ計画通りの目標を達成できた。肝移植はさらに症例を蓄積しても骨壊死発生は見られなかった。骨髄移植は治療法の変更のため症例収集ができなかつ

た。骨髄移植は臍帯血移植、幹細胞輸血など治療体系が変化したため前回使用したプロトコールの合意がえられず、症例収集ができなかった。改めて症例の収集を予定している。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

わが国でも臓器移植の発展により今までは治療が不可能であった腎臓、肝臓、心臓や骨髄の同種移植方法が確立されつつある。症例が増加するにつれて晩期合併症の一つである大腿骨頭壊死が問題となっている。大腿骨頭に壊死が起ると多くは骨頭の破壊につながり、股関節機能が高度となる。その発生頻度は10~20%にも及ぶ。臓器移植で元の臓器の機能が改善しても、股関節の障害によって歩行機能は著しく障害されQOLの低下も著明となる。研究班では臓器移植をおこなっている泌尿器科、移植外科、肝臓外科、心臓外科、血液内科などと長期間連携して晩期合併症である大腿骨頭壊死の病態解明ならびに危険因子の同定から、骨頭壊死発生に対する予防方法を提言してきた。日本国民のみならず全世界へ向け情報を発信できている。

3) 今後の展望について

今後の展望と来年度の研究予定

移植患者に対する大腿骨頭壊死の危険因子を同定し、その予防法・治療法を確立することで移植患者のさらなるADL、QOLの向上をはかることである。臓器移植の病因病態を研究するために腎臓、肝臓、骨髄の臓器移植にともなう骨壊死の発生頻度、危険因子の同定を継続して行う。また臓器移植に対する保存療法、手術療法の治療成績、問題点についても検討する。

ステロイド投与量と骨壊死発生に関しては、単変量解析では総投与量、大量静注量、回数では境界域の有意差を示したが、死腎移植やDGFで補正した多変量解析では有意ではなかった。症例数が少ないので、今後症例数の増加させて検討が必要である。

ステロイド性大腿骨頭壊死症の遺伝的多型解析から今後の展望IONの発生をステロイド投与前から予測するためには、今後もさらにION発生と関連のある遺伝子多型を明らかにしていく必要がある。

肝移植が腎移植や骨髄移植との骨壊死発生頻度の差がなぜ生じているのかは不明である。この観点に注目したほかの臓器移植と比較して調査研究が病態解

明に有用と考えている。

骨髄移植後骨壊死における人工関節の成績は早期に緩みを来す可能性が考えられた。しかし本研究の結果からは骨髄移植後 ION に対する THA の成績は ION 全体と変わらなかった。

今後は腎移植と同様な患者背景、生化学的検査、遺伝子検査を肝移植、骨髄移植でも検討する必要がある。また肝移植、骨髄移植もさらなる症例を蓄積して危険因子の同定を行う必要がある。

4) 研究内容の効率性について

移植外科、血液内科、整形外科、統計学者が連携して危険因子を見出すことが出来る効率的な研究体制となっている。晩期合併症の一つである大腿骨頭壊死症のリスクを低減させる総合的な研究体制によって臓器移植を受けた日本国民に有効で安全な移植医療を提供できる。

5. 結論

腎移植では移植腎の機能獲得が遅延し移植後 1 週以内に透析を要する DGF 症例で骨壊死発生のリスクが高かった。腎移植では免疫抑制剤の種類と ION 発生 ($p=0.027$)、またはステロイド投与プロトコルと ION 発生との比較($p=0.021$)で有意な関連があった。

腎移植後の骨頭壊死で血中濃度の ApoB/A1 比と、腎移植後 ION との間に有意な関連を認めた。ApoB 遺伝子を併せて3遺伝子の遺伝子多型と ION との関連が明らかになった。これら3遺伝子の組合せと ION との関連を解析した。ABCB1 が TC+CC で、CBP が AG の症例では、odds ratio(OR)が 22.91 となり、有意な OR の上昇を認めた。Lp(a) phenotype の分子量が小さい症例ではステロイド性 ION 発生の risk が上昇した。

肝移植後骨壊死症が発症した症例は 1 例も認めていない。骨髄移植後の骨頭壊死に対する人工関節の成績は全ての骨頭壊死の成績と変わらなかった。

C. ステロイドの微小循環への作用 (病態 II) (担当: 小林千益)

1. 研究目的

ステロイドの微小循環への作用に関し、主として血管内皮障害、脂質代謝障害、凝固線溶異常に関し研究を行った。

血管内皮障害に関しては、松本俊夫、赤池雅史らが NO bioavailability 低下で生じる酸化ストレス亢進による血管内皮機能障害をアスピリン、ピタバスタチン、アトルバスタチンで改善できるか検討した。田中良哉、岡田洋右らは、高濃度ステロイドによる内皮細胞の増殖抑制と apoptosis 誘導を C 型ナトリウム利尿剤ペプチド(CNP)で抑制できるか検討した。進藤裕幸、熊谷謙治らは SHRSP/Nagasaki ラットで、ステロイドによる酸化ストレスを緩和するために Pentosan を用い、骨頭壊死発生頻度の抑制効果を調べた。松本忠美らは、抗酸化剤である還元型グルタチオンでステロイド投与家兎モデルの骨壊死発生率を抑制できるか検討した。

脂質代謝障害に関しては、松本忠美、福井清数がステロイド投与後早期に骨髄内細動脈の微小脂肪血栓を走査電顕で観察した。佛淵孝夫、重松正森らはヒト骨髄組織培養系でステロイド投与によって脂肪細胞の数とサイズと細胞外脂肪滴の変化を観察した。進藤裕幸、熊谷謙治らは SHRSP/Nagasaki ラットの骨頭壊死発生にともなう脂質代謝障害を調べた。ステロイドによる脂質代謝障害を改善する薬剤の研究では、松本俊夫、赤池雅史らがピタバスタチン、アトルバスタチンで、進藤裕幸、熊谷謙治らが Pentosan で、松本忠美らが還元型グルタチオンで、山本卓明、神宮司誠也らがピタバスタチンで実験を行った。

凝固線溶異常に関しては、長沢浩平らが SLE 患者へのステロイド投与に際しワーファリンを併用する研究を行ってきたが、有意な予防効果が得られなかった。現在、ワーファリンとスタチンを併用する前向き研究を行っている。また、長沢浩平らは、SLE 患者へのステロイド投与による可溶性血管内皮プロテイン C 受容体(EPCR)の変化を調べた。

また、堀内博志らは、家兎の大腿骨髄内微小循環を蛍光物質をトレーサーとして in vivo で観察することを試みた。また、家兎の大腿骨髄圧を測定し、全身の動脈血圧上昇と静脈血圧上昇の影響を調べた。

2.3. 研究方法と研究結果及び考察

血管内皮障害に関しては、松本俊夫、赤池雅史らが NO bioavailability 低下で生じる酸化ストレス亢進による血管内皮機能障害をアスピリン、ピタバスタチン、アトルバスタチンが改善することを示した。田中良哉、岡田洋右らは、高濃度ステロイドによる内皮細胞の増殖抑制と apoptosis 誘導を C 型ナトリウム利尿剤ペプ

チド(CNP)で抑制した。進藤裕幸、熊谷謙治らは、ステロイドによる酸化ストレスを緩和するために用いた Pentosan によって SHRSP/Nagasaki ラットの骨頭壊死発生頻度を抑制した。松本忠美らは、抗酸化剤である還元型グルタチオンでステロイド投与家兎モデルの骨壊死発生率を抑制したが、DNA の酸化傷害の抑制が主な機序であると考えられた。

脂質代謝障害に関しては、松本忠美、福井清数らがステロイド投与後早期に骨髓内細動脈の微小脂肪塞栓を観察し、佛淵孝夫、重松正森らはヒト骨髓組織培養系でステロイド投与によって脂肪細胞の数とサイズの増大と細胞外脂肪滴の増加を観察した。また、進藤裕幸、熊谷謙治らは、SHRSP/Nagasaki ラットの骨頭壊死発生に伴い脂質代謝亢進を確認した。ステロイドによる脂質代謝障害を改善する薬剤の研究では、松本俊夫、赤池雅史らのピタバスタチン、アトルバスタチン、進藤裕幸、熊谷謙治らによる Pentosan、松本忠美らによる還元型グルタチオン、山本卓明、神宮司誠也らによるピタバスタチンで、脂質代謝改善効果が確認された。特に、ピタバスタチン、Pentosan、還元型グルタチオンでは、骨壊死発生頻度抑制効果も示された。

凝固線溶異常に関しては、長沢浩平らが SLE 患者へのステロイド投与に際しワーファリンを併用する研究を行ってきたが、有意な予防効果が得られなかった。現在、ワーファリンとスタチンを併用する前向き研究を行っている。また、長沢浩平らは、SLE 患者の 60%でステロイド投与後に可溶性血管内皮プロテイン C 受容体(EPCR)増加を認め、それによる凝固機能亢進の ION 発生への関与の可能性を示した。

家兎の大腿骨髓内微小循環を蛍光物質をトレーサーとして in vivo で観察できる実験系を堀内博志らが開発した。これまでのところ、ステロイドによる変化を観察できていないが、別条件で検討している。また、家兎大腿骨髓圧を in vivo で測定し、全身の動脈圧上昇より静脈圧上昇の方が大腿骨髓圧上昇への影響が大きいことを確認した。今後、大腿骨髓圧と骨壊死発生との関連性を検討する。

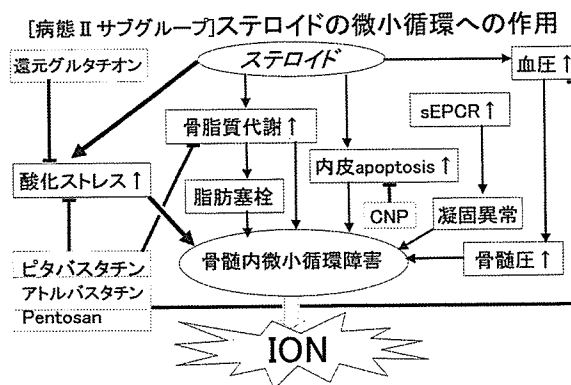


図1. ION 発生機序におけるステロイドによる微小循環への作用のまとめ

4. 評価

(ア) 達成度について

ステロイドの微小循環への作用に関し、主として血管内皮障害、脂質代謝障害、凝固線溶異常に関し研究を行った。

血管内皮障害に関しては、主に酸化ストレス亢進による血管内皮障害をアスピリン、ピタバスタチン、アトルバスタチンで改善できることを示し、予防薬開発へ基礎的根拠を示せた。高濃度ステロイドによる内皮細胞の増殖抑制と apoptosis 誘導を C 型ナトリウム利尿剤ペプチド(CNP)で抑制でき、ステロイドパルス療法などの高濃度ステロイド暴露による障害の予防薬として期待される。ステロイドによる酸化ストレスを緩和に Pentosan が有効であることを SHRSP/Nagasaki ラットのモデルで示した。抗酸化剤である還元型グルタチオンでステロイド投与家兎モデルの骨壊死発生率を抑制できた。

脂質代謝障害に関しては、ステロイド投与後早期に骨髓内細動脈の微小脂肪塞栓を観察し、ヒト骨髓組織培養系でステロイド投与によって脂肪細胞の数とサイズの増大と細胞外脂肪滴の増加を観察した。また、SHRSP/Nagasaki ラットの骨頭壊死発生に伴い脂質代謝亢進を確認した。ピタバスタチン、アトルバスタチン、Pentosan、還元型グルタチオンで、脂質代謝改善効果が確認された。

凝固線溶異常に関しては、SLE 患者へのステロイド投与に際しワーファリン併用を試みたが、有意な予防効果が得られなかった。現在、ワーファリンとスタチンを併用する前向き研究を行っている。また、SLE 患者の 60%でステロイド投与後に可溶性血管内皮プロテイン C 受容体(EPCR)増加を認め、それ

による凝固機能亢進の ION 発生への関与の可能性を示した。

家兎の大腿骨髄内微小循環を蛍光物質をトレーサーとして in vivo で観察できる実験系を堀内博志らが開発した。また、家兎大腿骨髄圧を in vivo で測定し、全身の動脈圧上昇より静脈圧上昇の方が大腿骨髄圧上昇への影響が大きいことを確認した。

(イ) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

ION 発生機序におけるステロイドの微小循環の関与では、主にステロイドによる酸化ストレス増大による影響が最も強く、脂質代謝障害も関与しており、凝固線溶異常の関与も否定できないと考えられた。ION 発生予防薬としては、スタチン(ピタバスタチンやアトルバスタチン)、Pentosan、還元型グルタチオンが、抗酸化作用と脂質代謝改善作用を兼ね備え、骨壊死モデル動物での骨壊死発生頻度抑制効果が示されており、臨床的 ION 予防薬として今後の発展が期待される。検索した範囲では、いずれも ION 発生機序における新発見であり、新しい ION 発生予防薬として臨床応用が期待される。これらの薬剤によってステロイドによる ION の発生が予防できれば、働き盛りの患者が多いだけに社会的意義も大きい。

(ウ) 今後の展望について

血管内皮障害に関しては、主に酸化ストレス亢進による血管内皮障害をアスピリン、ピタバスタチン、アトルバスタチンが改善し、ION 予防薬としての基礎的根拠を示せたので、臨床応用に向けて発展させる。

高濃度ステロイドによる内皮細胞の増殖抑制と apoptosis 誘導を C 型ナトリウム利尿剤ペプチド(CNP)で抑制できたことは、ステロイドパルス療法などの高濃度ステロイド暴露による障害の予防薬として期待されるが、まず骨壊死モデルで骨壊死発生率を抑制できるか検討する。

ステロイドによる酸化ストレスを緩和に Pentosan が有効であることを SHRSP/Nagasaki ラットのモデルで示しが、他の家兎などの骨壊死モデルでも確認を要する。

抗酸化剤である還元型グルタチオンでステロイド投与家兎モデルとラットのモデルでも骨壊死発生

率の抑制ができ、その機序も示されたので、臨床応用のための研究を推進する。

脂質代謝障害に関しては、ステロイド投与家兎モデルと SHRSP/Nagasaki ラットで骨頭壊死発生に伴う脂質代謝亢進を確認した。ピタバスタチン、Pentosan、還元型グルタチオンで、脂質代謝改善効果を確認し、ピタバスタチン、Pentosan、還元型グルタチオンでは、骨壊死発生頻度抑制効果も示された。これらの薬剤は抗酸化作用もあり、予防薬としての期待が高いため、臨床応用に向けた研究を推進する。

凝固線溶異常に関しては、ワーファリンとスタチンを併用する前向き研究の結果が待たれる。また、SLE 患者でステロイド投与後に可溶性血管内皮プロテイン C 受容体(EPCR)が増加することの関与については、ION 発生との関連や機序に関しさらなる研究を要する。

家兎の大腿骨髄内微小循環を蛍光物質をトレーサーとして in vivo で観察できる実験系では、ステロイドによる影響を確認できなかったが、分子量の異なる蛍光物質を用いた検討を行っている。また、家兎大腿骨髄圧を in vivo で測定し、全身の動脈圧上昇より静脈圧上昇の方が大腿骨髄圧上昇への影響が大きいことを確認したが、今後、大腿骨髄圧と骨壊死発生との関連性を検討する。

(エ) 研究内容の効率性について

ステロイドの微小循環への作用に関し、主として血管内皮障害、脂質代謝障害、凝固線溶異常に関し研究を行った。それぞれのテーマに関し、サブグループ構成員が、その得意とする手法によって研究を行い、ステロイドによる ION 発生機序に関し、その概要が明らかになりつつある(図1)。各研究者の得意とする手法を駆使することで効率よく実験結果を得ることが出来た。また、班会議によって情報を交換し、相互に補い合い、効率よく研究を推進できた。

今回の研究結果より、ION 発生機序におけるステロイドの微小循環の関与では、主にステロイドによる酸化ストレス増大による影響が最も強く、脂質代謝障害も関与していると考えられた(図1)。ION

発生予防薬としては、スタチン(ピタバスタチンやアトルバスタチン)、Pentosan、還元型グルタチオンが、抗酸化作用と脂質代謝改善作用を兼ね備え、骨壊死モデル動物での骨壊死発生頻度抑制効果も示されており、臨床的 ION 予防薬として今後の発展が期待される。それらの予防薬によってステロイド使用にともなう ION 発生が予防できれば、患者にとっても福音であるが、医療経済的にも寄与することが大きい。

5. 結論

ステロイドの微小循環への作用に関し、主に血管内皮障害、脂質代謝障害、凝固線溶異常に関する研究を行った。ION 発生機序におけるステロイドの微小循環の関与では、主にステロイドによる酸化ストレス増大による影響が最も強く、脂質代謝障害も関与しており、凝固線溶異常の関与も否定できないと考えられた(図1)。ION 発生予防薬としては、スタチン(ピタバスタチンやアトルバスタチン)、Pentosan、還元型グルタチオンが、抗酸化作用と脂質代謝改善作用を兼ね備え、骨壊死モデル動物での骨壊死発生頻度抑制効果も示されており、臨床的 ION 予防薬として今後の発展が期待される。

D. 動物モデル (病態Ⅲ) (担当: 神宮司誠也、山本卓明)

[研究目標]

1. ステロイド性大腿骨頭壊死の病因および病態解明
2. ステロイド性大腿骨頭壊死の予防方法開発
3. 骨頭壊死発生後の病態解明

[方法]

各種動物モデルを用いて、骨頭壊死の病因、病態について検討した。さらに、疾患発生予防を試みた。詳細は結果及び考察に含める。

[結果および考察]

1. ステロイド性大腿骨頭壊死の病因および病態解明について

信州大学の小平らは家兎骨髄内圧を測定する方法を検討した。下大静脈圧圧迫すると下肢静脈圧や骨髄圧の急激な上昇が認められた。今後、ステロイド剤投与の骨髄圧の変化について検討していく予定で

ある。

金沢医科大学の三秋らは日本白色家兎に酸化ストレス剤を投与し、骨壊死が発生することを明らかにした。投与した家兎では、コントロールに比べて、抗酸化指標である還元型グルタチオンが減少していた。しかし脂質系には変化が認められなかった。即ち、ステロイド性骨壊死の発生には生体内酸化ストレスが関与している可能性が示唆された。

九州大学の西田らはステロイド性骨壊死モデルにおける性差について検討した。オス、メスほぼ同数の28週令以上の家兎にステロイド剤を投与し2週後の骨壊死発生率を比較した。オスでは64%であったが、メスでは27%と有意に低かった。血清 LDL コレステロール値もオス群が有意に高かった。

2. ステロイド性大腿骨頭壊死の予防方法開発

大阪市立大学の高岡らは、CYP3A 活性誘導作用の無い、非 statin 高脂血症治療薬 ProbucoI、CYP3A 活性誘導作用の無い statin 系高脂血症治療薬 Pravastatin、CYP3A 活性誘導作用のある statin 系高脂血症治療薬 Simvastatin を各々予防的に投与し、骨壊死発生に CYP3A 活性と脂質系因子が及ぼす影響について検討した。それぞれの群の壊死発生率は、control 群で 83%、ProbucoI 群で 67%、Pravastatin 群で 46%、Simvastatin 群で 13%であった。Control 群に比べて、statin 投与群では有意に骨壊死発生が減少し、ProbucoI 投与群では骨壊死発生は減少している傾向があった。また CYP 活性誘導作用の無い ProbucoI 投与群と Pravastatin 投与群に比べて、CYP3A 活性誘導作用のある Simvastatin 投与群では有意に骨壊死発生がより減少していた。高脂血症治療薬を予防投与することにより骨壊死発生頻度は control 群に比べて減少したが、CYP3A 活性誘導作用のある simvastatin 投与群で骨壊死発生頻度はさらに減少しており、CYP3A6 活性誘導による効果が加わったものと考えられた。

3. 骨頭壊死発生後の病態解明

東京大学の田中栄らは、阻血から骨細胞壊死にいたる分子メカニズムを解析する為にマウス尾部結紮モデルを作成した。マウスの尾部を結紮し、8時間後に結紮を解除し、再還流させた。その後7, 14, 28日後の遠位尾部のアポトーシスや組織学的検査を行なった。再還流後7日目に結紮部より遠位で骨細胞アポトーシスが観察された。14日目には多数の empty lacunae が骨組織に認められ、28日目には骨新生が

認められた。さらに同じ動物モデルにおいて、再還流後 7 日目に尾部を採取し、抽出した mRNA を用いた PCR array にて発現遺伝子を検討した。近位部と遠位部を比較すると、p53, TRAIL receptor が遠位部で発現上昇していた。今後、p53 遺伝子ノックアウトマウスを用いた検討、臨床例の検討によって骨壊死の本質が明らかになることが期待される。

【本年度における目標の達成度】

それぞれの研究において本年度の目標はほぼ達成したと思われる。

E. 血液凝固能抑制、脂質代謝異常 (予防 I)

(担当: 藤岡幹浩、長澤浩平、山路 健)

【研究目的】

当研究班では H15 年度までに動物モデルを用いて高脂血症治療剤、抗凝固剤および抗酸化剤が特発性大腿骨頭壊死症 (ION) 発生を予防することを示してきた。

H16 年度以降の研究目的は①これらの薬剤によって ION が臨床的に予防可能かどうかを検討すること、②新たな薬剤や処置の ION 発生予防効果を検証すること、③ION 予防効果の機序を解明すること、とした。

【研究方法と結果】

1. (藤岡幹浩、京都府立医科大学大学院運動器機能再生外科学)

(山路 健、津田裕士、順天堂大学膠原病内科)

(田中良哉、岡田洋右、産業医科大学第一内科)

(三森経世、野島崇樹、川端大介、京都大学大学院臨床免疫学)

(竹内 勤、天野宏一、埼玉医科大学総合医療センター リウマチ膠原病内科)

(川人 豊、京都府立医科大学大学院生体機能制御学)

(黒田 毅、新潟大学第二内科)

京都府立医科大学、順天堂大学、産業医科大学、京都大学、新潟大学、埼玉医科大学の共同研究として高脂血症治療薬 (アトルバスタチン) による大腿骨頭壊死症予防の可能性を検討している。患者背景を統一するため、対象を SLE の初発患者で過去にステロイド治療を受けていないもののみを対象として、症

例数を集めるために多施設共同研究として randomized controlled trial の形で行っている。アトルバスタチンを投与するか否かは症例登録後に京都府立医大において blocked randomization を用いて無作為に割り振られる。

アトルバスタチン非投与群 10 例、投与群 13 例が登録された。アトルバスタチン非投与群の 20% に ION の発生を認めたが、アトルバスタチン投与群には 1 例も ION が発生していない。また、ION 発生群では有意に血清コレステロールが高値であり、その他血液検査データからもステロイドの薬理作用が増強している傾向を認めた。本研究の結果は①アトルバスタチンの ION 予防効果が期待できること、②高脂血症が ION の発生に何らかの関与をしている可能性があること、③ION 発生群ではステロイドの薬理作用が増強している傾向があることを示している。

2. (山路 健、順天堂大学)

SLE 患者でステロイドを維持量から中等量以上 (プレドニゾロン換算で 0.5mg/kg 以上) に増量した症例において、ION の発生がみられるかどうか、および高脂血症のコントロールと ION の関係について検討した。

1 年以上の経過を観察できた症例は 5 例であった。全例で血清コレステロールの上昇を認めたが、スタチンの投与によって上昇の程度は抑制された。ION の発生を 1 例に認めた。この症例はスタチンを内服しており高脂血症の程度は軽度であったが、アルコール愛飲歴があった。ステロイド以外の ION のリスクファクターについても考慮が必要であると考えた。

3. (長澤浩平、佐賀大学)

ステロイドを大量に使用する初発 SLE 患者にステロイド剤治療開始と同時にワーファリンとスタチンを併用投与し、ION 発生の有無を確認した。また、定期的な血液検査によって血清コレステロールや血液凝固能の変化を観察した。17 例において ION 発生の有無を確認した。

ワーファリンとスタチンを併用した大量ステロイド療法施行初発 SLE 患者において、ION の発生率は 18% であり、H15 年までの研究で判明した無治療群での ION 発生率 34%、ワーファリンのみの投与群での 26% に比べて低下していた。また、ワーファリンとスタチンを併用することによって、凝固能の亢進と血清コレステロール値の上昇が抑制された。

4. (神宮司誠也、山本卓明、九州大学)

ステロイド性 ION の家兎モデルに第 3 世代のスタチンであるピタバスタチンを投与して ION 予防効果を検討した。

コントロール群では骨壊死発生率が 70%であったのに対し、ピタバスタチン投与群では 43%であった。プロブコールの投与における同様の実験の結果では骨壊死発生率は 37%であり、ピタバスタチン投与群とほぼ同等の結果であった。LDL-C については、プロブコール群、ピタバスタチン群ともにコントロール群より有意な低下を認め、ピタバスタチン群では、プロブコール群と比してさらに有意な低下を認めた。

5. (高岡邦夫、大阪市立大学)

骨壊死発生と高脂血症、さらにステロイド代謝の主要酵素である CYP3A6 の活性との関係を検討した。CYP3A6 を誘導しない非スタチン系高脂血症治療薬(プロブコール)、CYP3A6 を誘導しないスタチン系高脂血症治療薬(プラバスタチン)、または CYP3A6 誘導作用を有するスタチン系高脂血症治療薬(シンバスタチン)をステロイド性家兎骨壊死モデルに投与した。

高脂血症治療薬投与 3 群ともにコントロール群に比べて骨壊死頻度は低下した。また、非スタチン系のプロブコール投与群に比し、スタチン系治療薬投与群で骨壊死発生頻度は減少した。さらに、CYP3A6 活性誘導作用のないプラバスタチン投与群に比し、CYP3A6 を誘導するシンバスタチン投与群で骨壊死発生は減少した。これらの結果より、ION の予防には脂質の低下に加えてスタチンの特異的薬理作用が有用であること、また ION 発生とステロイド代謝酵素活性に関連性があることが示唆された。

【考察】

1. まだ症例数が少なく解析する段階ではないが、症例数を集めるため多施設共同研究を行っている。スタチン単独で有意な壊死抑制効果が認められれば、合併症も少なく入院治療も必要としないため、臨床診療において福音となる可能性がある。
2. スタチン投与下においても脂質のコントロールが不良である場合、ION 発生のリスクは軽減されない可能性が考えられる。
3. ワーファリンの単独使用に対して、スタチンを併用することによって、ION の予防効果が増強することが期待できる。また、今回生じた ION はステロイド投与開始から 1 年以上経過してから発生

しており、ワーファリンとスタチンを併用することによって ION の発生を遅らせる可能性があると考えられた。

4. プロブコール群とピタバスタチン群は共に骨壊死発生率の低下を認め、高脂血症を抑制することが骨壊死発生の予防につながる事が確認できた。また、両群間で脂質の低下に有意差があるにもかかわらず、骨壊死発生率に差がないことから、脂質を低下させることのみが骨壊死発生減少に結びつく訳ではないと推察できる。
5. 3 群ともに頻度が低下したことは高脂血症の改善による効果と考えられる。また、非スタチン系のプロブコール投与群に比し、スタチン系治療薬投与群で骨壊死発生頻度は減少した。これについては、CYP3A 活性に関わりなくスタチンの特異的薬理作用が影響している可能性がある。CYP3A6 活性誘導作用のないプラバスタチン群に比べて、誘導作用を持つシンバスタチン群では骨壊死頻度が低下したことから、CYP3A6 活性誘導が壊死発生抑制に関与することも推察される。

【本年度における目標の達成度】

前向き臨床研究では厳密な randomized controlled trial の study design で施行しているため、症例数を増やすために多施設共同研究を開始してデータの蓄積を進めている。まだ症例数が十分でないため有意差とはいえないが、投与群で壊死発生は認めておらず、当初の研究目標は達成したと言える。

【来年度における研究予定】

確実な予防法が確立できれば国民の健康レベルの向上につながる。高脂血症治療薬による大腿骨頭壊死症発生予防の多施設共同研究を進めていく。

F. 遺伝子解析

(予防Ⅱ)

(担当: 中島滋郎、高橋謙治)

1. 研究目的

特発性大腿骨頭壊死症(ION)、特に近年増加しているステロイドホルモン薬投与に関連した ION の発生を予測し、さらに予防することを目標とする。ステロイドホルモンの作用あるいは副作用の出現には個人差が存在し、その背景には何らかの遺伝的因子が存在していると考えられる。本サブグループでは、ステロイド

誘発性 ION の遺伝的素因と発生のメカニズムを解明する目的で、ステロイドホルモン作用発現に關与する遺伝子(群)と大腿骨頭壊死症そのものの発症に關与する遺伝子(群)について検討した。遺伝的因子の検討としてゲノム遺伝子を用いた SNP 解析を、また、その因子が実際に疾患に關与しているかの検討として mRNA レベルおよび蛋白レベルでの解析を行っている。このような研究を通して、ION の疾患感受性の患者個体差を判定する方法を確立する。

2. 研究方法

ステロイドホルモンの作用発現に關与する因子そのものの基礎的検索を加藤が、ステロイドホルモン作用に關与する様々な因子の遺伝子多型とステロイド誘発性 ION 発生の關連の解析を中島が、肝臓での CYP3A 活性とステロイド誘発性 ION 発生の關連の解析を高岡がそれぞれ行った。また、ステロイドホルモンの副作用発現に深く關係するリポ蛋白質の血中濃度や遺伝子多型と ION の発生の關連について高橋が検討した。

(1)破骨細胞における核内受容体の機能解析(加藤茂明)

破骨細胞特異的 Cre 発現マウスを作製し、既に樹立済みのアンドロゲン受容体(AR)あるいはエストロゲン受容体(ER) flox マウスと交配を行う事で破骨細胞特異的 AR 及び ERKO マウスを作製し、骨組織の解析を行った。

(2)ステロイドホルモン作用に關与する因子の遺伝子多型とステロイド誘発性 ION 発生の關連の解析(中島滋郎、田村京子)

従来より GR 遺伝子、11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 遺伝子および CBP 遺伝子の多型について解析してきた。本年度は、GR の重要な転写共役因子である Nuclear Receptor Coactivator 2 (NCOA2)の遺伝子多型とステロイド性 ION の発生の關連について検討を行った。

NCOA2 遺伝子については、日本人における SNP データベース(東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターと科学事業振興事業団の共同プロジェクトである JSNP データベース)上に日本人での多型の分布がほぼ判明している多型を検索し、イントロン部分にある多型(JST067949)を解析した。この多型をふくむ

部分に PCR プライマーを設定し、下記の腎移植後患者および健常日本人より得たゲノム DNA を用いて PCR 反応を行った。PCR 産物を精製の後、ダイレクトシーケンス法により DNA 配列を検討した。検討対象は京都府立医科大学における腎移植後患者 157 名(男性 112 名 女性 45 名)で、そのうち ION 発生群は 34 名(男性 23,女性 11 名)、ION 非発生群 123 名(男性 89,女性 34 名)であった。また同時に健常日本人76名でも検討した。

(3)肝臓での CYP3A 活性とステロイド誘発性 ION 発生の關連の解析(高岡邦夫、金城養典)

生体内でステロイド剤は主に肝臓の薬物代謝酵素である CYP3A により代謝を受け、代謝を受けなかった未変化体が標的細胞に至り作用する。CYP3A は現在使用されている全薬物の 50%以上を代謝すると考えられており、また肝臓での mRNA の発現量は 50 倍以上、その生体内機能は 4-10 倍の個体差があるとされ、薬物反応性の個体差を説明する酵素の一つとされている。このため、CYP3A 活性の低い患者はステロイド剤の代謝が悪く、その過剰な薬理効果のためにステロイド性 ION を発生する可能性があり、以下の検討を行った。

対象は、整形外科入院手術を受けたステロイド性 ION 患者 26 例、アルコール性 ION 患者 29 例、整形外科入院手術を受けた健常人 75 人を control 群とした。

CYP3A 活性定量は midazolam clearance を計測することにより定量した。整形外科手術麻酔導入を midazolam 0.25 mg/kg にて導入し、静注後経時的(5,10,15,20,30,45,60,90,120,180,240,360 分)に採血を行い、血中 midazolam 濃度、および 1'-OH midazolam 濃度を HPLC にて定量した。得られた値より濃度曲線を作成し血中濃度曲線下面積(AUC; Area under the concentration curve)を測定し、midazolam clearance 値(CL=Dose/AUC)を算出し、CYP3A 活性とした。

低侵襲なスクリーニングテストとして midazolam の代謝産物である 1'-OH midazolam 濃度を midazolam 濃度で除した 1-OH' midazolam/midazolam ratio について解析した。全ての採血ポイントで 1-OH' midazolam/midazolam を算出し、CYP3A 活性との相関性及びステロイド性 ION 発生高リスク患者の同定の可能性について検索を行った。

(4)ION 発生と3遺伝子(ABCB1、ApoB、CBP)多型の関連(高橋謙治、平田哲朗、中島滋郎、田村京子)

今回およびこれまでの検討で、ION発生と有意な関連が明らかになった輸送タンパクのABCB1遺伝子、脂質代謝のApoB遺伝子、そしてGR関連のCBP遺伝子のそれぞれの多型の相互関連についてlogistic regression modelを用いて解析した。

(倫理面への配慮)

患者および健常人に対して行う研究については、当該施設において倫理委員会およびヒトゲノム研究審査委員会により承認されている。

3. 研究結果及び考察

(1)破骨細胞における核内受容体の機能解析(加藤茂明)

破骨細胞特異的 ARKO マウスでは、破骨細胞数の増加と、それに伴う骨吸収の亢進によって大幅な骨量低下を認めた。また、メスの破骨細胞特異的 ERKO マウスでは破骨細胞機能の亢進に伴う顕著な骨密度の低下が見られた。また、このマウスではエストロゲン過剰投与による海綿骨量の増加が著しく阻害されている事が分かった。一方、オスの破骨細胞特異的 ERKO マウスにおいてはこれらの異常は観察されないことから、生理的条件下において ER はメス特異的な骨吸収制御因子として機能すると考えられた。

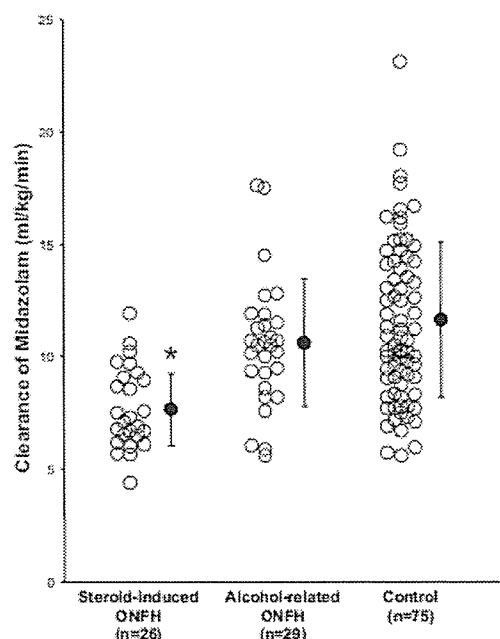
(2)ステロイドホルモン作用に関与する因子の遺伝子多型とステロイド誘発性 ION 発生との関連の解析(中島滋郎、田村京子)

NCOA2 遺伝子の JST067949 多型は、健常日本人 76 名の検討で C/C 63.2%、C/T 35.5%、T/T 1.3%であった。一方、腎移植患者 157 名では、ION 発生群では C/C 64.7%、C/T 32.4%、T/T 2.9%、非発生群では C/C 50.4%、C/T 40.7%、T/T 8.9%で、統計学的に有意差は認めなかった($p=0.14$)。

(3)肝臓での CYP3A 活性とステロイド誘発性 ION 発生との関連の解析(高岡邦夫、金城養典)

ステロイド性 ION 群、アルコール性 ION 群、control 群の midazolam clearance 値の分布を示す(図)ステロイド性 ION 群は midazolam clearance 値が低値であり、平均値にて比較するとアルコール性

ION 群、control 群と比較して統計学的有意に CYP3A 活性が低かった($p<0.001$)。



図

次に、CYP3A 活性低値がステロイド性 ION の発生に関与しているか検索するために unconditional logistic regression model を用いて多変量解析を行った。単変量解析において、midazolam clearance が 1mg/kg/min 減少するごとにステロイド性 ION 発生のリスクが 1.7 倍上昇していた($p < 0.001$)。さらに、control 群の midazolam clearance 値の第 2 三分位である 9.5mg/kg/min 以下を CYP3A 活性低値と設定し解析したところ、CYP3A 活性低値はステロイド性 ION 発生のリスクを 8.4 倍高めていた($p < 0.001$)。多変量解析にて性・年齢・喫煙・高脂血症・肝機能・腎機能の影響を調整した結果、最終的に CYP3A 活性低値はステロイド性 ION 発生のリスクを 9 倍上昇させていた($p < 0.001$)。また、Attributable fraction は 89%であり、肝 CYP3A 活性低値はステロイド性 ION の主要な原因であることが明らかになった。

75 名の患者において $1'$ -OH midazolam/midazolam ratio を算出し、midazolam clearance 値との相関を検討した結果、midazolam 投与後 45 分での $1'$ -OH midazolam/midazolam ratio は midazolam clearance 値と非常に良い相関を示し、CYP3A 活性をよく反映することが明らかになった ($p<0.0001$)。さらにステロイド性 ION 患者の $1'$ -OH midazolam/midazolam ratio は低値 ($p<0.001$)であり、これを用いた 1 回採血法による簡便なリスク予知検査

が可能であると考えられた。

(4)ION 発生と3遺伝子(ABCB1、ApoB、CBP)多型の関連(高橋謙治、平田哲朗、中島滋郎、田村京子)

まず、ABCB1 遺伝子、ApoB 遺伝子そしてCBP 遺伝子の多型でリスクの上昇を認め、このリスク上昇は互いの遺伝子多型で調整後も保たれていた。

次に、2遺伝子ずつの組合せと ION との関連については、ABCB1 遺伝子 と CBP 遺伝子 の SNP の組合せで 4 つのグループに分け、ABCB1 TT、CBP GG の症例を reference としたときの3グループの OR を計算した。ABCB1 TT、CBP AG の症例(OR=6.55)、ABCB1 TC+CC、CBP GG の症例(OR=6.45)では、いずれも OR の上昇を示したが有意ではなかった。ABCB1 TC+CC、CBP AG の症例では、OR=22.91 となり、有意な OR の上昇を認めた。

4. 評価

1) 達成度について

基礎的研究としては、ステロイドホルモンの機能発現機序に対する解明は非常に順調に達成されている(加藤ら)。臨床面では、ステロイド性 ION の発生に有意に関連する遺伝子多型として、以前報告した ABCB1 遺伝子に加えて新たに CBP 遺伝子(中島ら)および ApoB 遺伝子(高橋ら)を明らかにした。また、肝臓 CYP3A 活性(高岡ら)や apo(a) phenotype(高橋ら)と ION 発生の関連も明確になり、特に前者は ION の発生と極めて強い関係があることが示された。このように ION 発生を予測するマーカーの発見、開発の目標もほぼ達成できた。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

各々の研究成果は国内外の学会で発表され、また英文学術雑誌に掲載あるいは投稿中である。

これまでに明らかにしたように、遺伝子多型や、肝臓 CYP3A 活性、apo(a) phenotype の測定が ION 発生リスクの予想に応用できれば、近年増加しつつあるステロイド誘発性 ION の予防法の確立に大きく寄与すると思われる。

3) 今後の展望について

基礎研究としては、ステロイドホルモンの作用、特に骨での作用発現に関与する因子の探求を続ける。

遺伝子解析については、さらに新規の遺伝子多型を検討するとともに、効率よくリスク評価できる組み合わせを検討する。

現在のところ、ステロイド性 ION の発生と最も関連が強い肝 CYP3A 活性については、さらに簡便かつ安全な検査法の確立を目指す。

4) 研究内容の効率性について

現在のところ、直接に患者を対象とした検討は主として京都府立医科大学整形外科教室および大阪市立大学整形外科教室で、基礎研究は主として東京大学分子細胞生物学研究所および大阪大学小児科教室でそれぞれ重複なく分担して行っており、極めて効率的であると考ええる。

5. 結論

本サブグループでは、基礎的研究の成果をもとに、ステロイド性 ION の発生に関連する遺伝子多型として、既報の ABCB1 遺伝子に加えて新たに CBP 遺伝子および ApoB 遺伝子を明らかにした。さらに、肝臓 CYP3A 活性や apo(a) phenotype と ION 発生の関連も明確になり、特に前者は ION の発生と極めて強い関係があることが示された。このように、ION 発生を予測するマーカーの発見、開発という当初の目標に近づきつつあり、またこれらの成果の社会への公表も順調であると考ええる。

G. 診断基準、病型分類、病期分類 (治療 I) (担当:大園健二、神宮司誠也)

1. 研究目的

(はじめに)特発性大腿骨頭壊死症の診断基準は平成 8 年に新基準を策定し、病期分類、病型分類は平成 13 年 6 月付けにて改訂案を策定、パンフレットを作成頒布し、現在臨床、行政の現場で広く活用されているところである。平成16~18年度は引き続きこれらの診断基準、病期分類、病型分類の妥当性と、股関節機能の予後予測への有用性の検証、鑑別すべき疾患との差異をより明らかにすることを目的に研究が実施され、今後の診断、治療の精度のさらなる向上を図る成果が得られた。

(現在の診断基準・病期分類・病型の解説)

<1> 発性大腿骨頭壊死症診断基準

1)X 線所見:骨頭圧潰または Crescent sign(骨頭軟骨下骨折線)

- 2) X線所見: 骨頭内帯状硬化像
- 3) 骨シンチグラム: 骨頭の Cold in hot 像
- 4) 骨生検標本: 修復反応層を伴う骨壊死像
- 5) MRI: 骨頭内帯状低信号域 (T1 強調画像)

以上の5項目のうち2項目以上を満たせば確定診断と判定し、除外項目では腫瘍、腫瘍性疾患および骨端異形成症を除外することとしている。

<2> 病期分類では Stage2 と 3 の境界が明瞭にされている。すなわち骨頭軟骨下骨折(いわゆる Crescent sign)は圧潰早期の所見であるが、かつては Stage2 に分類されていて国際的分類との整合性を欠いていた。Crescent sign を生じれば Stage3A、圧潰が 3mm 以上と著明になれば Stage3B と判定することで国際分類との整合性を保ちながら臨床的有用性も向上した。

Stage1: X線像の特異的異常所見はないが、MRI、骨シンチグラムまたは病理組織像で特異的異常所見がある時期

Stage2: X線像で帯状硬化像があるが骨頭の圧潰がない時期

Stage3: 骨頭の圧潰があるが関節裂隙は保たれている時期

Stage3A: 骨頭圧潰が 3mm 未満の時期(軟骨下骨折線 Crescent sign を含む)

Stage3B: 骨頭圧潰が 3mm 以上の時期

Stage4: 明らかな関節症性変化が出現する時期

<3> 病型分類は X線・MRI の両方またはいずれか一方でも判定しうる利便性の高いものとして策定されており、壊死域の局在と臼蓋荷重面との位置関係によって分類する。

TypeA: 壊死域が臼蓋荷重面の内側 1/3 未満にとどまるもの、または壊死域が非荷重部のみに存在するもの

TypeB: 壊死域が臼蓋荷重面の内側 1/3 以上、2/3 未満の範囲に存在するもの

TypeC: 壊死域が臼蓋荷重面の内側 2/3 以上におよぶもので C1、C2 の2群に分類する

TypeC1: 壊死域の外側端が臼蓋縁内にあるもの

TypeC2: 壊死域の外側端が臼蓋縁をこえるもの

2. 研究方法

診断基準・病型分類・病期分類の各項目の妥当性を検証するため、診断基準・病型分類・病期分類の

各項目に関連して各種症例の研究報告、各項目における課題の検討を継続的、集積的におこなった。その結果 診断基準の妥当性、精度の検証と改訂の可否の検討、追加すべき除外項目の新規策定、病型分類・病期分類についても妥当性、精度の検証および改訂または補足事項の要否などについて検討することとした。またこれら診断基準・病型分類・病期分類に関連して種々の病態に関する臨床研究についても積極的に推進し、疾患の動態に関する理解を深めることとした。

(倫理面への配慮)

臨床研究を行うにあたり患者プライバシーの保護、必要に応じ倫理委員会の承認を受けて臨床研究を行う方針とした。

3. 研究結果および考察

(研究発表)

<病期・病型分類に関する研究>

「特発性大腿骨頭壊死症の健常域について—TypeA、TypeB 単純 X線像と 45 度屈曲位像の比較—」(玉置 聡、渥美 敬ほか、昭和大学藤が丘病院)の研究では、特発性大腿骨頭壊死症において股関節単純 X線正面像、杉岡による骨頭側面像で描出できない骨頭前方外側壊死域に対して、股関節 45 度屈曲位像評価の結果が報告された。X線正面像で病型分類 TypeA、B に分類される症例に対して、股関節 45 度屈曲位像における臼荷重部の健常域について検討している。対象は、股関節 X線正面像で TypeA、B に病型分類された ION 25 例 33 関節であるが、結論として単純 X線正面像で壊死域の荷重部にしめる領域が小さな症例でも、股関節 45 度屈曲位像では臼荷重部が広範囲壊死の症例が存在するという。股関節 45 度屈曲位像で広範囲壊死の症例は圧潰が進行しやすいと言え、本撮影法は予後を評価する簡便な方法として示された。

「特発性大腿骨頭壊死症の病期・病型分類と予後」(大園健二、坂井孝司ほか、国立大阪医療センター)の報告では特発性大腿骨頭壊死症と診断した 167 例について病型分類を行い、病期の進行と治療法との関連を retrospective に極めて詳細に調査したところ、TypeC2 例では TypeC1 例と比べて stage3B、Stage4 に進行し手術にいたる症例が多かったことが示された。また 10 年以上経過しても stage3A で圧潰の進行が停止し、手術を施行していない症例が見ら

れたという。このように Type A, Type B, Type C1, Type C2 では、各々の病型において予後が明確に異なることが検証され、特に Type C1 と Type C2 の分類は予後予測や治療方針決定に際して重要であることが示された。

「大腿骨頭壊死における関節内変化」(神宮司誠也、九州大学)の研究では、現在の ION 病期分類の課題が指摘された。Stage 3A, 3B, 4 おおの 37 関節、7 関節、4 関節の臼蓋側および大腿骨頭側の関節軟骨厚さを計測したところ Stage 3A, 3B では軟骨厚さは臼蓋、骨頭共に保たれていたが Stage 4 では臼蓋側で軟骨の摩耗が認められ骨頭側の摩耗は顕著でなかったという。臼蓋の骨棘形成は、骨頭のそれと比べ、関節症進展により関与していると考えられ、Stage 分類における、関節症に関する記述を再検討することで Stage3B と 4 の境界線が明確にできる可能性を示した。

< 診断基準に関する報告 >

(平成18年度)「特発性大腿骨頭壊死症 当科紹介例の検討」(坂井孝司、大園健二ら、国立大阪医療センター 整形外科)の報告では特発性大腿骨頭壊死症として当科へ紹介された症例のうち、当科での診断が異なった 3 例、及び特発性抱大腿骨頭壊死症との診断が困難であった 2 例について検討された。診断が異なった 3 例については、1.臼蓋形成不全後の変形性関節症、2.SLE に伴う股関節炎、3.bone marrow edema syndrome と診断された。診断が困難であった 2 例については、1.MRI での band 像が明瞭でなく、core biopsy にて組織所見から診断した症例、2.関節症変化を呈しており、手術時に摘出した組織所見から診断した症例であった。紹介医に対する診断結果のフィードバック、さらなる診断基準の普及の必要性、及び診断困難例に対する病理組織検討の必要性が提示された。

< 鑑別診断を要する疾患 >

RDC

急速破壊型股関節症 (Rapidly destructive coxopathy=以下 RDC)は特発性大腿骨頭壊死症と鑑別を要する主要疾患である。「RDC における臼蓋側における早期 MRI 所見:九大、西田ら」の研究(平成16年度)では、RDC 発症後早期にX線では軽度の関節裂隙狭小化を示すのみであったが、MRI では骨

頭および臼蓋外側に T1wI=low、T2wI=high を呈する領域を認め、骨壊死とは明らかに異なる病態を示すことが明らかになった。

また「大腿骨頭圧潰を契機に急速に股関節破壊が進行した症例:九大、山本ら」の研究(平成16年度)ではプレドニン投与歴のある 70 歳女性に軽度の骨頭圧潰、臼底骨折線が生じ 1 ヶ月で RDC 様の急速かつ高度の股関節破壊が生じたことが示された。SIF と RDC の因果関係を論じる上で重要な症例と考えられる。

SIF

大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折 (Subchondral insufficiency fracture of the Femoral Head=以下 SIF)は骨粗鬆症などの骨脆弱性を基盤とする軟骨下骨の破綻による疲労骨折で高齢者に発症しやすいと考えられてきたが、特発性大腿骨頭壊死症との鑑別に格段の検討を要する症例もみられる。「大腿骨頭壊死症と鑑別を要した若年成人の SIF 例の検討:九大、山本ら」の研究(平成16年度)では 29 歳男性例や 23 歳女性例において大腿骨頭に圧潰を生じ大腿骨頭壊死症との鑑別に難渋する事例が存在することが示された。両症例共に軽度の外傷を契機に発症しており病理標本で骨壊死所見を認めず SIF と確定診断された。特発性大腿骨頭壊死症の診断には比較的若年であっても本疾患の存在を念頭に置いて外傷歴の有無にも留意する必要性が示された。「SLE 患者に発生した大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折」(山本卓明、神宮司誠也ほか、九州大学、平成17年度)の研究、「特発性大腿骨頭壊死症と大腿骨頭軟骨下骨折の鑑別を要した 1 例」(小平博之、小林千益ほか、信州大学、平成17年度)の研究では大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折(SIF)は特発性大腿骨頭壊死症と紛らわしい点が多く慎重に鑑別疾患に含めておく必要があることが示された。また「ステロイド股関節内注入後に急速に骨頭圧潰が進行した症例(山本卓明、神宮司誠也ほか、九州大学、平成17年度)の研究で SIF や RDC(急速破壊型股関節症)類似の病態も提示され鑑別を要する病態であることが示された。

「Protrusio Acetabuli を来した臼蓋内側部に発生した脆弱性骨折」の症例報告が山本卓明ら(九州大学整形外科、平成18年度)によりなされた。Protrusio Acetabuli を来した、臼蓋内側に発生した脆弱性骨折症例(93歳、男性例)が報告された。原因不明の疾患である Protrusio Acetabuli の病因の一つとして臼

蓋側に発生した脆弱性骨折を考慮しておく必要がある。

TOH (BMES)

一過性大腿骨頭萎縮症 (Transient Osteoporosis of the Hip=TOH) は急激な股関節痛の発生をみる原因不明の病態で X 線にて大腿骨頭の輪郭が不鮮明となるほか MRI にて T1wl=low、T2wl=high を呈することが特徴である。MRI 所見は骨髓内浮腫を示していることから Bone Marrow Edema Syndrome (BMES) ともよばれる。「PET を用いて大腿骨頭内循環動態を測定できた TOH の 2 例: 京都府立医大、栗林ら」、「PET を用いて大腿骨頭内循環動態を測定した一過性大腿骨頭骨萎縮症～追加症例の検討」(平田哲朗、藤岡幹浩ほか、京都府立医大、平成17年度)の研究では TOH と ION は初期に類似した画像所見を呈するも治療方針が異なるため早期鑑別が重要であることが強調された。報告では、一過性大腿骨頭骨萎縮症 (transient osteoporosis of the hip: TOH) の病態解明のため、positron emission tomography (PET) を用いて 5 症例について大腿骨頭の血行動態の解析を行ったところ血流量および血管床容積は増加しており増加時期は有症状期に一致していることが示された。TOH は特発性大腿骨頭壊死症と混同されやすい疾患であるが明らかに全く異なる病態であり鑑別疾患に含めておく必要がある。

<病態に関する研究>

(平成16年度)

「特発性大腿骨頭壊死症の圧潰形態に関する臨床病理学的検討: 九大、本村ら」の研究では、人工関節置換術時に得られた20大腿骨頭 (Stage3A: 10骨頭、stage3B: 10骨頭) を用いて圧潰部の病理学的検討を行った。軟骨下骨での骨折線 (いわゆる Crescent sign) を呈したものが70%、壊死部と健常部の分界部付近での圧潰が20%、壊死部中央を骨折線が走行するものが10%であった。圧潰に伴う骨折線はいずれも分界部との連続性があることが示され、圧潰のメカニズムの解明に重要な所見が明らかになった。

「大腿骨頭壊死症の長期的修復過程: 阪大、高尾ら」の研究では、10年以上保存的に経過した24例31関節 (ステロイド関連30関節) を対象に単純 X 線画像の経時的変化と最終診察時の MRI 所見 (T1 強調画像、T2 強調画像、脂肪抑制画像) を調査した。また5年以上前の MRI が入手しえた17例24関節につ

いて T1 強調画像上での病変の大きさの変化を調査した。平均経過観察期間は14.2年。初診時の病期は Stage1 が17関節、Stage2 が9関節、Stage3A が4関節、Stage3B が2関節であった。病型分類では TypeA が6関節、TypeB が13関節、TypeC1 が10関節、TypeC2 が3関節であった。最終診察時、Stage1 が8 (17) 関節、Stage2 が4 (9) 関節、Stage3A が11 (4) 関節、Stage3B が5 (2) 関節、Stage4 が4 (0) 関節と進行していた。最終診察時の MRI 所見では無反応性壊死の所見を示す Band Pattern にとどまった例が10関節あり、その他は低信号像を示した。壊死域の消失や拡大を示した症例はみられなかった。発生早期の修復反応の旺盛な時期を経過した症例の多くは、骨頭圧潰の発生がなければその修復反応は10年以上の長期においても壊死・健常部の分界部辺縁で静止している。壊死範囲が局限していれば圧潰は生じずそのまま長期間安定すること、いったん骨頭圧潰が発生しても軽度にとどまり、その進行が停止した場合は修復反応が促進され、長期予後の良好な症例存在することが明らかにされた。今後、骨壊死修復を促進する要因を追求する上で重要な知見と考えられる。

「特発性大腿骨頭壊死症における多発性骨壊死: 国立大阪医療センター、坂井ら」の研究では、特発性大腿骨頭壊死症200症例を対象に、症状の有無に関わらず、膝関節、肩関節、および足関節の MRI スクリーニングを施行し多発性骨壊死の頻度および臨床的特徴が調査された。患者背景ではステロイド関連151例、アルコール関連36例、狭義の特発性が13例であった。多発性骨壊死は解剖学的に異なる2ヶ所以上の部位に生じた骨壊死と定義した。多発性骨壊死例は107症例 (54%) で、ステロイド関連では92例 (61%)、アルコール関連15例 (42%) であった。狭義の特発性では多発性骨壊死は認められなかった。(平成17年度)

「非常に稀な Inflammatory pseudo-tumor of the lung の治療後両側大腿骨頭壊死症を発症した症例」(高尾正樹、菅野伸彦ほか、大阪大学)の研究では、非常に稀な inflammatory pseudo-tumor of the lung のステロイド治療後に両側 ONFH を発症した症例について報告された。呼吸器疾患に発生する骨壊死については、喘息がよく知られ、近年 SARS 症例の5%に認めたとする報告があるが、呼吸器疾患を基礎疾患とするステロイド関連の ION についての文献上

の報告は依然少ないのが現状である。

「ステロイド多量投与後短期における股関節液貯留に関する検討」(加藤英治、渥美敬ほか、昭和大学藤が丘病院)の研究では、ステロイド投与後早期の MRI にて股関節液の貯留を認める症例が観察されたという。ネフローゼ症候群、SLE、IgA 腎症、シェーグレン症候群、慢性糸球体腎炎、結節性多発性動脈炎などの基礎疾患の治療としてステロイドを多量投与され、投与後3ヶ月以内に MRI 撮像した 14 症例 28 関節を研究対象としている。少量の関節液を認める Grade 1 は 11 関節、大腿骨頸部の全周にわたり貯留している Grade 2 は 15 関節、明らかな関節液貯留を認める Grade 3 は 2 関節に観察され、Grade 2 以上を関節液の増加と判断すると約 60%の症例で関節液が貯留していたという。ステロイド多量投与後短期に股関節液貯留の増加を認める症例があることから、タンポナーデ効果が ION の発生要因の1つであるという仮説が提示された。

「片側の特発性大腿骨頭壊死と診断後、5 年経過して反対側に骨頭壊死が発生した一例」(大園健二、上杉彩子ほか、国立大阪医療センター)の報告では、ION の片側発生例の反対側に骨壊死発生をみた稀な症例が提示された。特発性大腿骨頭壊死症の片側発生例では、MRI で異常を認めなかった反対側の大腿骨頭に遅れて壊死が発生する症例は稀である。報告では右アルコール性特発性大腿骨頭壊死症と診断されてから 5 年後に MRI にて左大腿骨頭壊死の発生を認めた。38 歳の男性でアルコール多飲歴のほか、ビュルガー病に罹患しており、反対側の大腿骨頭壊死の発生にビュルガー病が関与している可能性が指摘された。

「造影 MRI による特発性大腿骨頭壊死症の反応性組織と圧潰進行の関連性の検討」(西井孝、菅野伸彦ほか、大阪大学)の研究では、特発性大腿骨頭壊死症 29 例 47 関節(Stage 1/2/3A/3B, 19/3/19/6 関節)のガドリニウム造影後脂肪抑制 MRI 所見より、圧潰進行と反応性組織反応との関連性について検討されている。Stage 1/2 の全症例で MRI 上壊死部境界に限局性の線状造影効果を認めたのに対し、Stage 3A/3B の 84/83%で壊死部境界に拡大した線状または結節状の造影効果を認められた。7 症例での術前造影 MRI 所見と摘出骨頭組織所見の対比では、MRI 造影効果部位は血管組織と細胞成分に富む線維性組織が侵食した領域に相当していたという。

軟骨下骨骨折線にそって細胞成分に富む線維性組織の介在や MRI 上造影所見を認めた例はなく、圧潰の進行と壊死部境界の反応性組織の活動性亢進との関連性が示唆された。

「特発性大腿骨頭壊死症における bone marrow edema と臨床症状悪化との関連」(伊藤 浩、平山光久ほか、旭川医科大学)の研究では、早期 ION の 61 例 83 関節を 3~4 ヶ月毎に単純 X 線像で、6 ヶ月~1 年毎に MRI で経過観察している。経過観察期間は平均 5 年(3 ヶ月~14 年)であり 36 関節(43%)で症状が増悪し、Harris Hip score が 70 点未満となるか手術を受けていた。Bone marrow edema は 28 関節(34%)に認められ、うち 27 関節(96%)で症状が増悪していた。Bone marrow edema を認めた例の壊死体積は、認めなかった例と比べ有意に大きく、Bone marrow edema の発生は、症状増悪に最も強く関連する要因であるといえる。

(平成18年度)

「特発性大腿骨頭壊死症における臼蓋形成不全」(神宮司誠也ほか、九州大学整形外科)の研究では大腿骨頭壊死症股関節に臼蓋形成不全があれば圧潰発生や術後成績に影響を与える可能性があるとしている。術前圧潰が認められる、特発性大腿骨頭壊死症手術症例において、臼蓋形成不全の程度と頻度について調査された。1998~2001 年に当科にて行われた THA 以外の初回手術症例における術前両股関節正面前後像単純 X 線写真にて Sharp 角、臼蓋傾斜角、AHI、CE 角を計測し、これまでに報告された股関節標準値と比較された。対象症例において、これらの指標が標準値より有意に臼蓋形成不全や骨頭被覆が減少している傾向が認められ、圧潰発生との関連性が示唆された。

「3D-MR image registration 法を用いたステロイド関連、アルコール関連膝骨壊死症の経時的評価」の研究(高尾 正樹ほか、大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科学)では、stage1 の大腿骨頭壊死症症例のうち、ステロイド投与開始後 1 年以内の発生早期と考えられる症例で MRI 上壊死領域が縮小することがあることを、画像同士を 3 次元的に重ね合わせる image registration 法を用い示した。このような現象が他部位に発生した骨壊死においても認められるがどうか明らかにするため、膝関節周囲のステロイド関連、アルコール関連骨壊死症を対象に1年以上の間隔で 3D-MRI を撮影し、image registration 法にて画

像同士を重ね合わせ壊死領域の大きさの変化を評価した。結果 18 例 30 膝中 8 例 15 膝に壊死領域の縮小を認めた。

(考察)

診断基準・病期・病型分類に関する課題に関してはいくつかの課題が明らかとなった。

<病型分類>

病型分類については TypeA、TypeB、TypeC1、TypeC2 の4分類は関係学会等において十分周知がはかられた結果、臨床研究の分野で十分機能しているものと認められる。しかしながら本病型分類は大腿骨頭の壊死領域と臼蓋との相対的な位置関係で分類しているため、日本人女性に比較的多く認められるところの臼蓋形成不全、亜脱臼またはその傾向が合併した場合などには、本来 TypeB と判定される骨壊死症例でも TypeC 群に分類されることが少なくない。一方で大腿骨頭に占める骨壊死領域の MRI による2次元的計測(壊死面積測定)、3次元的計測(壊死体積測定)のような絶対値と予後との関連が調査されている一方で、本分類は臨床の利便性を考慮してのことではあるものの相対値に基づく分類なのである。広く普及して実用性も認められていることから本分類の改訂を要するか否かはなお十分慎重な検討が必要であるが、本分類のこうした特性についてはなお周知を図ることとする。病型分類は標準的なレントゲン所見や MRI 所見から簡便に分類するものであるので、境界線にある症例の病型判定には一定の限界もある。臨床の場にあっては様々な補助的診断法を推奨して、より精密な予後予測や治療方針の決定に臨む必要があるだろう。しかしすべて複雑な分類体系とするのはかえって混乱を招くので、現在の病型分類を用いた継続的な運用と検討が望まれるところである。

<病期分類>

病期分類については Stage2 と Stage3 の境界線を明確にしたことで臨床的有用性はめざましく向上した。しかしながら Stage3B と Stage4 の境界線にはなお課題が残っている。すなわち Stage3B の後期になると骨頭圧潰の影響で骨頭の変形とともに臼蓋側にも骨棘形成、軽度の関節裂隙狭小化などの初期の関節症性変化が生じるので Stage4 との境界が曖昧となる。研究者によってはそのような関節症性変化が生じれば Stage4 と診断するケースも見受けられる。あくまで本分類は治療方針の決定の根拠となりうることを目標

に策定されているものであるから Stage4 とは、たとえば人工股関節全置換術相当など ION 病変が Burn Out した末期変形性股関節症の所見を指すべきではないか、Stage3 は3つへ細分類すべきではないかとの意見もある。今後よりいっそう治療指針の根拠となりうる病期分類の改善または解釈上の基準が議論されるべきであり、Stage3B と Stage4 の区分に関して、まず研究班内でのコンセンサス形成を図るための議論がおこなわれてきた。その結果、病期分類では stage 3A、3B の区分が予後の相違や治療方針を決定する上で非常に有用であることが確かめられつつある。その一方で stage 3B と stage 4 の境界線が曖昧な点は否めないところである。今後治療方針決定にも有用となるような明確な区分方法を提案する必要がある。神宮司らのいう「関節裂隙狭小化+明らかな臼蓋側の骨棘形成」の所見を以って Stage 4 と判定する方法も検討されている。

<診断基準>

現在の診断基準は感度、特異度ともに99%であることが検証された精度の高い基準と言える。しかしながら特発性大腿骨頭壊死症の Stage1 においては MRI 所見の T1 強調画像において低信号の Band に囲まれた高信号の壊死域所見(骨頭内帯状低信号域、いわゆる Band 像)が特異的所見であることが明らかとなっているにも関わらず、X 線はもちろんのこと骨シンチグラフィでも異常所見を呈さず侵襲的な骨生検を施行しないかぎり他の4項目所見を満たすことが出来ない症例があり、「2項目以上」という条件に適合せず確定診断と認定されない場合がある。MRI にて典型的 Band 像を呈し、膠原病などの基礎疾患やステロイド投与歴などの背景も有して、明らかに特発性大腿骨頭壊死症の早期例(Stage1)と診断可能であるにも関わらず「2項目以上」という条件が本疾患の確定診断を阻んでいるのである。ION の予防が重要であることはさることながら、それ以上に Stage1 の ION に対する早期治療法の開発の重要性は論を待たない。したがって今後一定の条件を加味した上で「典型的な Band 像」1項目を以って2項目相当とすること、すなわち確定診断とすることが検討された。しかしながら ION と紛らわしい band 像を有する ION 以外の症例も報告されており、現状では病理検査 1 項目(骨生検標本での修復反応層を伴う骨壊死像)だけでは確定診断としていない厳密な診断基準であるということも認識し、今後さらに慎重に討議を継続する必要がある

あるとの結論に達している。この課題に関しては今後の継続的な研究が必須である。

< 診断基準の除外項目 >

診断基準に付記された除外項目は現在のところ、「腫瘍、腫瘍性疾患および骨端異形成症は除外する」とされている。しかし研究報告にもあるように本疾患と混同される恐れのある類似疾患が存在する。それらは急速破壊型股関節症 (RDC)、一過性大腿骨頭萎縮症 (TOH または BMES)、そして大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折 (SIF) などである。それぞれの疾患の特異性・独自性は各疾患症例の十分な症例数の蓄積、臨床的特徴、特異な画像的所見の精査の結果、十二分に検討され ION との差異は極めて明確にされたというべきであり、今後、特発性大腿骨頭壊死症との鑑別のため除外項目に追加明記すべき疾患であると提言する。

ION 発生に関わる様々な基礎疾患についても症例報告を蓄積しており、MRI の診断技術の進歩とともに詳細な病態も明らかにされつつあり、今後の研究発展が期待される場所である。

4. 評価

1) 達成度について

診断基準、病型分類、病期分類の有用性と改訂の必要な課題について十分な臨床データが継続的に集積され、当初の要請基準はある一定レベルまで達成されたものとする。しかしながら、これらの診断基準、分類基準の医学的な「高品質」を維持するためには今後も継続的な臨床研究が必須である。

2) 研究結果の学術的・国際的・社会的意義について

報告された研究結果については国内、海外の関係主要学会等においても報告され、国内、海外の著名誌に論文掲載されたものも多い。今回の研究成果は学術的にも国内のみならず国際的にも高い評価を得ているものと認められる。またこれらの研究結果から当研究班の策定してきた本疾患の診断基準、病期、病型分類が高い信頼性を有することが明らかとなったことは日常診療において本疾患を有する患者群の適正な診断、適正な予後判定、適正な治療法の選択に十二分に貢献していることは明らかで高い社会的意義を有する成果と考えられる。しかし本難病に対するより精度の高い診療を目指すとき、なお改定すべき課題も明らかとなっているので、さらなる研究計画の継続

が望まれる場所である。

3) 今後の展望について

いまだ整形外科分野の中にあっても ION 専門家と一般整形外科医師との間には診断基準や病期・病型分類に関するコンセンサスの不一致があり、病態の捉え方にも理解の不一致が存在する。これを解決するためには一般医家への啓蒙のますますの促進のみならず、一般医家にも理解しやすい診断基準・病期病型分類の解説マニュアル作成や、必要に応じた修正が必要となろう。

4) 研究内容の効率性について

膨大な症例の臨床データの継続的な蓄積は本診断基準、病期・病型分類の重要な根幹をなしていることは論を待たない。いずれの臨床データも各項目毎に登録整理され確定診断、病型分類に基づく予後予測、そして診療方針決定のうえの重要なエビデンスとなっているのである。各研究機関に投入された研究資金に対し、きわめて有用性の高い臨床成果を数多く得ており、本疾患患者にもたらした恩恵もまた計り知れないといっても過言ではなく、良好な効率性のみならず質の高い研究を維持しつつあるといえよう。

5. 結論

本研究班の< 治療 I: 診断基準・病期病型分類 > サブグループは国際的にも一定の評価を受けうる ION 診断基準・病期・病型分類を策定し、数多くの臨床例の検討から、その有用性を裏付けてきた。したがって本研究の達成度は高いレベルにあるといえるがいまだなお100%の達成度とは言えない。その理由は、研究成果に前述したように、なお存在する本診断基準、病期・病型分類の種々の課題である。具体的には診断基準における MRI 所見の取り扱い(特異的 Band 像1項目を以って確定診断しうるか?)、病期に関しては Stage IIIB と Stage IV の境界線の定義をどうするか?、病型分類における種々の補助的診断法をどのように位置づけるのかなどである。今後さらに臨床研究を継続し、これらの課題に対する解決策としての診断基準、病期・病型分類の修正もしくは改訂を押し進めることにより、きわめて完成度の高い国際的にも十分通用するような診断基準、病期・病型分類を策定することが望まれる。