

1997; 6: 1105-1107.

6) 疫学研究に関する倫理指針. 文部科学省、厚生労働省. 2002年6月

表1. 症例, 対照間の一般特性比較

| | 症例 | 対照 | *p |
|--------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------|
| 対象数 (男性/女性) | 73 (46/27) | 252 (150/102) | 0.592 |
| 年齢 | 45.3 (20-79) Med=44 | 47.5 (18-79) Med=48 | 0.224 |
| 身長 (cm) | 163.8 (141-182) Med=164.5 | 164.0 (125-184) Med=165.0 | 0.862 |
| 体重 (kg) | 59.7 (40-91) Med=58 | 60.9 (41-95) Med=60 | 0.622 |
| 20歳時体重 (kg) | 55.3 (40-85) Med=55 | 56.6 (40-130) Med=55 | 0.364 |
| Body mass index (kg/m ²) | 22.2 (16.4-32.0) Med=22.0 | 22.5 (15.2-31.4) Med=22.2 | 0.493 |
| 1週間のエタノール摂取量 (g/週) | 262.5 (0-1579.2) Med=114.0 | 176.8 (0-3633.7) Med=54.0 | 0.052 |
| 1日喫煙本数 (本/日) | 14.3 (0-55) Med=15 | 11.6 (0-80) Med=4 | 0.031 |

対象数以外の値は平均値(範囲)、Med.=中央値

* χ^2 検定、またはWilcoxon順位和検定

表2. 既往歴と特発性大腿骨頭壊死症

| | | 症例 | 対照 | Crude Odds Ratio | | *Adjusted Odds Ratio | |
|----------|---|---------|----------|------------------|-------|----------------------|-------|
| | | n (%) | n (%) | OR (95% CI) | p | OR (95% CI) | p |
| 肝障害 | + | 7 (10) | 13 (5) | 2.42 (0.92-6.35) | 0.072 | 4.91 (1.13-21.3) | 0.034 |
| | - | 66 (90) | 236 (95) | 1 | 1 | | |
| 膵炎 | + | 1 (1) | 5 (2) | 0.73 (0.08-6.81) | 0.780 | | |
| | - | 72 (99) | 244 (98) | 1 | 1 | | |
| 高血圧 | + | 9 (12) | 29 (12) | 1.27 (0.53-3.00) | 0.594 | | |
| | - | 64 (88) | 220 (88) | 1 | 1 | | |
| 糖尿病 | + | 2 (3) | 14 (6) | 0.55 (0.12-2.48) | 0.440 | | |
| | - | 70 (97) | 233 (94) | 1 | 1 | | |
| 高脂血症 | + | 30 (42) | 73 (30) | 1.78 (0.99-3.18) | 0.053 | 1.45 (0.60-3.53) | 0.409 |
| | - | 42 (58) | 173 (70) | 1 | 1 | | |
| 痛風・高尿酸血症 | + | 14 (19) | 27 (11) | 2.01 (0.96-4.20) | 0.065 | 1.86 (0.56-6.13) | 0.308 |
| | - | 58 (81) | 220 (89) | 1 | 1 | | |

*モデルに含めた変数: 肝障害の既往, 高脂血症の既往, 痛風の既往, 薬剤使用歴, 喫煙 (pack-years), 飲酒 (drink-years)

表3. 薬剤使用歴と特発性大腿骨頭壊死症

| | | 症例 | 対照 | Crude Odds Ratio | | *Adjusted Odds Ratio | |
|------------|---|---------|----------|------------------|-------|----------------------|-------|
| | | n (%) | n (%) | OR (95% CI) | p | OR (95% CI) | p |
| 胃腸薬 | + | 43 (61) | 87 (36) | 3.28 (1.79-6.01) | 0.000 | 1.49 (0.57-3.88) | 0.412 |
| | - | 27 (39) | 158(64) | 1 | | 1 | |
| ビタミン剤 | + | 25 (36) | 42 (18) | 3.39 (1.77-6.51) | 0.000 | 1.56 (0.49-4.96) | 0.451 |
| | - | 44 (64) | 198 (83) | 1 | | 1 | |
| ステロイド (経口) | + | 44 (62) | 29 (12) | 13.9 (6.20-31.4) | 0.000 | 28.6 (7.06-115.6) | 0.000 |
| | - | 27 (38) | 205 (88) | 1 | | 1 | |
| ステロイド (軟膏) | + | 18 (26) | 29 (12) | 2.27 (1.15-4.31) | 0.018 | 0.23 (0.06-0.99) | 0.049 |
| | - | 51 (74) | 204 (88) | 1 | | 1 | |
| 睡眠薬 | + | 19 (28) | 37 (16) | 2.51 (1.22-5.14) | 0.012 | 1.86 (0.58-5.96) | 0.296 |
| | - | 50 (72) | 201 (84) | 1 | | 1 | |

*調整変数: 表中のすべての変数, 肝障害の既往, 高脂血症の既往, 痛風の既往, 喫煙 (pack-years), 飲酒 (drink-years)

表4. 喫煙習慣と特発性大腿骨頭壊死症

| | | 症例 | 対照 | Crude Odds Ratio | | *Adjusted Odds Ratio | |
|-------------------------|-----------|---------|----------|------------------|-------|----------------------|-------|
| | | n (%) | n (%) | OR (95% CI)* | p | OR (95% CI)* | p |
| 喫煙習慣 | なし | 23 (32) | 122 (49) | 1 | | 1 | |
| | 禁煙 | 13 (18) | 39 (16) | 2.22 (0.93-5.30) | 0.074 | 1.96 (0.58-6.59) | 0.278 |
| | 喫煙 | 36 (50) | 87 (35) | 2.55 (1.33-4.88) | 0.005 | 2.94 (1.15-7.54) | 0.024 |
| | | | | (trend: p=0.006) | | (trend: p=0.024) | |
| 1日喫煙本数 | Nonsmoker | 36 (50) | 161 (65) | 1 | | 1 | |
| | <20 | 11 (15) | 23 (9) | 2.05 (0.91-4.62) | 0.083 | 3.11 (1.01-9.59) | 0.049 |
| | 20+ | 25 (35) | 64 (26) | 1.85 (0.99-3.47) | 0.054 | 1.94 (0.85-4.47) | 0.118 |
| | | | | (trend: p=0.039) | | (trend: p=0.105) | |
| Pack-years [#] | 0 | 24 (33) | 122 (49) | 1 | | 1 | |
| | <10 | 13 (18) | 28 (11) | 2.19 (0.95-5.03) | 0.064 | 2.61 (0.74-9.22) | 0.136 |
| | 10-19 | 13 (18) | 24 (10) | 2.83 (1.21-6.60) | 0.016 | 2.35 (0.75-7.35) | 0.144 |
| | 20+ | 22 (31) | 74 (30) | 1.99 (0.91-4.33) | 0.084 | 2.09 (0.73-6.02) | 0.172 |
| | | | | (trend: p=0.051) | | (trend: p=0.173) | |

*調整変数: ステロイドの使用歴, 飲酒 (drink-years), 肝障害の既往

[#] pack-years = パック数 × 喫煙年数

表5. 飲酒習慣と特発性大腿骨頭壊死症

| | 症例 | 対照 | Crude Odds Ratio | | *Adjusted Odds Ratio | |
|--------------------------|---------|----------|------------------|-------|----------------------|-------|
| | n (%) | n (%) | OR (95% CI) | p | OR (95% CI) | p |
| Flusher / non-flusher | | | | | | |
| Flusher | 34 (48) | 136 (55) | 1 | | | |
| Non-flusher | 37 (52) | 110 (45) | 1.30 (0.75-2.24) | 0.348 | | |
| 飲酒習慣 | | | | | | |
| なし | 18 (25) | 72 (29) | 1 | | 1 | |
| 断酒 | 7 (10) | 22 (9) | 1.50 (0.51-4.44) | 0.464 | 1.45 (0.32-6.63) | 0.629 |
| 現在飲酒 | 48 (66) | 155 (62) | 1.31 (0.67-2.57) | 0.433 | 1.77 (0.67-4.67) | 0.246 |
| | | | (trend: p=0.490) | | (trend: p=0.230) | |
| 1週間のエタノール摂取量 (g/週) | | | | | | |
| Nondrinker | 25 (34) | 94 (39) | 1 | | 1 | |
| <70.0 | 13 (18) | 49 (20) | 1.00 (0.45-2.23) | 0.993 | 1.04 (0.34-3.19) | 0.942 |
| <250.0 | 13 (18) | 51 (21) | 0.96 (0.43-2.15) | 0.925 | 1.29 (0.41-4.08) | 0.662 |
| 250.0+ | 22 (30) | 50 (20) | 1.84 (0.86-3.95) | 0.118 | 3.13 (1.09-9.04) | 0.035 |
| | | | (trend: p=0.179) | | (trend: p=0.037) | |
| Drink-years [#] | | | | | | |
| 0 | 18 (25) | 72 (30) | 1 | | 1 | |
| <3,024 | 21 (29) | 85 (35) | 1.04 (0.49-2.21) | 0.912 | 1.23 (0.42-3.57) | 0.709 |
| 3,024+ | 34 (46) | 83 (35) | 2.43 (1.06-5.54) | 0.035 | 4.36 (1.25-15.3) | 0.021 |
| | | | (trend: p=0.036) | | (trend: p=0.012) | |

*調整変数:ステロイドの使用歴, 飲酒 (drink-years), 肝障害の既往

[#] drink-years=1週間のエタノール摂取量 (g/週)×飲酒年数

表6. Flusher / Non-flusher 別飲酒歴の相対危険

| | Crude Odds Ratio | | *Adjusted Odds Ratio | |
|--------------------|--------------------------|-------|--------------------------|-------|
| | OR (95% CI) [*] | p | OR (95% CI) [*] | p |
| Flusher | | | | |
| 1週間のエタノール摂取量 (g/週) | | | | |
| Nondrinker | 1 | | 1 | |
| <115 | 0.68 (0.25-1.88) | 0.460 | 0.71 (0.19-2.66) | 0.616 |
| 115+ | 0.91 (0.37-2.21) | 0.830 | 1.73 (0.48-6.17) | 0.400 |
| | (trend: p=0.742) | | (trend: p=0.507) | |
| Drink-years | | | | |
| 0 | 1 | | 1 | |
| <2,668 | 0.86 (0.34-2.18) | 0.747 | 0.88 (0.34-2.31) | 0.794 |
| 2,668+ | 1.05 (0.43-2.56) | 0.919 | 1.19 (0.40-3.49) | 0.757 |
| | (trend: p=0.942) | | (trend: p=0.813) | |
| Non-flusher | | | | |
| 1週間のエタノール摂取量 (g/週) | | | | |
| Nondrinker | 1 | | 1 | |
| <157 | 1.90 (0.56-6.50) | 0.305 | 4.39 (0.91-21.3) | 0.066 |
| 157+ | 2.79 (0.85-9.12) | 0.089 | 9.61 (1.76-52.6) | 0.009 |
| | (trend: p=0.078) | | (trend: p=0.009) | |
| Drink-years | | | | |
| 0 | 1 | | 1 | |
| <3,193 | 2.27 (0.46-11.2) | 0.316 | 2.51 (0.45-14.1) | 0.294 |
| 3,193+ | 4.34 (0.92-20.4) | 0.063 | 5.57 (0.87-35.6) | 0.070 |
| | (trend: p=0.025) | | (trend: p=0.044) | |

* unconditional logistic regression model により計算。

[#]調整変数:性, 年齢,ステロイドの使用歴, 肝障害の既往歴, 喫煙 (pack-years)

(病態 I) 臓器移植後大腿骨頭壊死症サブグループ平成16～18年度総括報告書

サブグループリーダー:長谷川幸治(名古屋大学大学院医学系研究科整形外科学)

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(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かった。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。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。最近で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難い。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、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。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ールを導入した。本検討ではCyclosporine導入後の3つのプロトコール(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・Omnifit 2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、大腿骨顆部壊死症を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は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線の破綻は白蓋カップに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。再置換症例はなかった。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年で白蓋/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白蓋側骨強度が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 を来た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った。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こ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、骨頭壊死発生の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て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た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ールと 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。

サブグループリーダー:小林千益 (信州大学医学部 整形外科)

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、福井清数らがステロイド投与後早期に骨髄内細動脈の微小脂肪塞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髄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。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。今後、大腿骨髄圧と骨壊死発生との関連性を検討する。

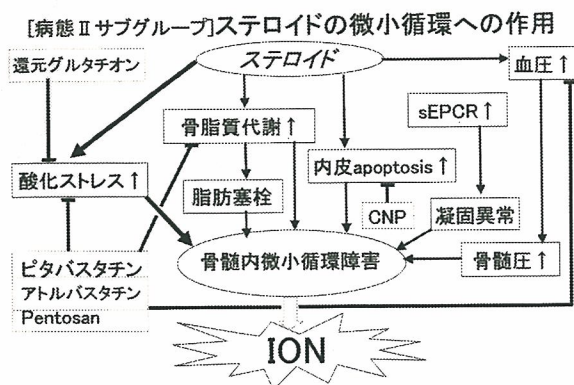


図1. ION 発生機序におけるステロイドによる微小循環への作用のまとめ

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髄内細動脈の微小脂肪塞栓を観察し、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。

サブグループリーダー:神宮司誠也、山本卓明(九州大学整形外科)

1. 研究目的

ステロイド性大腿骨頭壊死の病因および病態解明、及びその予防方法開発、そして骨頭壊死発生後の病態解明を目的として行なった。

2. 研究方法

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3. 研究結果及び考察に含める。

(倫理面への配慮)

各施設において動物取り扱いなどの基準に則って行われたものと思われる。

3. 研究結果及び考察

A ステロイド性大腿骨頭壊死の病因・病態解明

1) ステロイド投与後の骨髄内循環

① 家兎骨髄内微小循環系におけるステロイド剤の影響—新しい方法による骨髄内循環系の観察(信州大)

蛍光物質を用いて *in vivo* で家兎骨髄内循環系を観察する系を確立した。家兎大腿骨外側皮質骨を削って骨髄内を透過できるようにしておき蛍光物質を投与し骨髄内微小循環の様子を観察する方法である。コントロール群とステロイド投与群にて比較したが、明らかな差は認められなかった。さらに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。

② 走査電子顕微鏡を用いたステロイド投与家兎大腿骨髄の観察:微小脂肪塞栓の存在(金沢医科大)

走査電子顕微鏡を用いて大腿骨髄を観察する方法を開発した。ステロイド投与後8日目になると直径10 μ m程の細動脈を完全に閉塞した脂肪滴がみられた。骨髄細動脈内において観察された脂肪塞栓はステロイド投与後8日目で5箇所、14日目でも5箇所観察された。しかしコントロールの骨髄細動脈内には脂肪滴および脂肪塞栓を認めなかった。脂肪塞栓が阻血を起こし壊死を発生させた可能性を示唆している。

2) 酸化ストレス

① 日本白色家兎に対する酸化ストレス誘発剤を用いた骨壊死誘発(金沢医科大)

日本白色家兎に酸化ストレス剤を投与すると骨壊死が発生した。投与した家兎ではコントロールに比べて、抗酸化の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。

② グルタチオン合成阻害による骨および骨髄への影響(金沢医科大)

酸化ストレスを誘発する、グルタチオン合成阻害剤をラットに投与して骨や骨髄に対する影響を調べた。骨頭あるいは顆部に70%程度骨壊死を認めた。この動物モデルの特徴は、高脂血症を伴っていないこと、酸化ストレス単独で骨壊死を誘発できたこと、ラットのモデルなので遺伝子学的検索が行ないやすいこと、骨壊死発生部位が人におけるそれと類似していることなどである。これらの特徴により、今後の酸化ストレスによる骨壊死発生モデルとして発展していくことが期待できる。

③ ステロイド投与後早期における骨内のDNA酸化障害の骨壊死発生への関与(金沢医科大)

ステロイド投与した家兎における骨壊死発生に、骨内のDNA酸化傷害が関与しているかどうか検討した。生体内酸化ストレスによりDNA酸化傷害が起こると様々なタイプの細胞がアポトーシスになることが考えられ、血管障害や組織障害につながることも考えられる。ステロイド投与後5日、14日で組織のDNA酸化傷害が増えていることがわかった。5日目と14日目では差がなかった。組織学的検査より骨壊死発生より以前に骨内の酸化傷害が起こっており、容易に組織障害や細胞死が起こりやすい状態に陥っていることが明らかとなった。このことは骨内の酸化傷害は骨壊死の結果ではなく原因の一部を担っている可能性を示唆している。

④ SHRSPを利用した大腿骨頭壊死研究(酸化ストレスの観察)(長崎大)

高血圧自然発症ラットにおける骨壊死モデルでも酸化スト

スに関する研究が行なわれた。酸化ストレスマーカーを同モデルにて検出したところ、ステロイド投与をした群に多く認められる傾向があり、ステロイドによる酸化ストレス誘導の可能性が示唆された。

3) 高血圧自然発症ラット

① SHRSP を利用した大腿骨頭壊死研究(長崎大)

高血圧自然発症モデルでは脂肪細胞肥大化を誘導する adipokine についても検討された。WKY ラットにステロイドホルモンを投与した群で adiponectin と PPAR γ の染色性が高かった。SHRSP のステロイドホルモン無投与群では骨頭壊死を起こした動物の方が adiponectin と PPAR γ の染色性が高かった。これまでの研究により、脂肪細胞の機能不全がステロイド性大腿骨頭壊死の病因のひとつとして考えられる。ステロイド剤投与により正常脂肪細胞における adipokine の産生が誘導され、脂肪細胞の増生により髄内圧の上昇や微小循環不全を起こし、骨壊死につながるという仮説が考えられる。

4) 性別

① ステロイド性骨壊死モデルにおける性差の検討(九州大)

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、メスそれぞれ 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。

5) 組織診断

① 骨壊死動物モデル組織診断検討会の報告(共同研究)

骨壊死動物モデルの診断は組織学的診断であり信頼性は高いが、早期骨壊死の病理診断は必ずしも容易ではない。モデルによる診断の違い、施設による違いについて 4 施設共同にて検討した。標本のほとんどはステロイド単独投与による骨あるいは骨髄壊死モデルである。その他に馬血清モデルと無処置の動物の標本も少数含まれていた。4 施設で完全に診断が一致したのは 10 標本、3 施設で一致が 14 標本、2 施設で一致が 11 標本であった。骨壊死と壊死なしの異なる診断されたのが 16 標本、骨髄壊死と壊死なしの異なる診断をされたのが 2 標本、骨壊死と骨髄壊死の診断に分かれたのが 7 標本、骨壊死で一致したのが 3 標本、壊死なしで一致したのが 7 標本であった。壊死ありとなしで診断が分かれたのが約半数の 18 標本、壊死ありで一致したのが 10 標本、壊死なしで一致したのが 7 標本であった。今回、骨壊死動物モデルの組織診断が 4 施設でどの程度一致しているかを検討するために、組織診断

検討会を行なった。標本のほとんどがステロイド単独投与による骨、骨髄壊死モデルで類似する組織変化を呈するものが多かったが、その初期組織診断は施設間で不一致が認められた。初期診断が分かれた原因としては、1. 骨壊死と骨髄壊死を区別するかどうか施設により方針が異なること、2. partial empty lacunae を骨壊死に含めるかどうか方針が異なること、3. 組織変化が軽度の時の骨髄壊死の判定基準が異なること、4. アーチファクトの評価が異なることが考えられた。

B ステロイド性大腿骨頭壊死の予防方法開発

6) 高脂血症治療薬

① ピタバスタチンによるステロイド剤骨壊死予防効果(九州大)

対象は 28 週令以上の雄家兎 65 羽で、ピタバスタチン投与群(以下 PS 群)が 35 羽、ステロイド単独投与群、以下 CTR 群が 30 羽であった。骨壊死発生率は、CTR 群が 30 羽中 21 羽、70%であったのに対し、PS 群では 35 羽中 13 羽、37%であり、CTR 群に比して有意に低下していた。ピタバスタチン投与による骨壊死予防効果が認められた。

② 家兎での種々の高脂血症治療薬予防投与とステロイド誘発骨壊死発生との相関(大阪市立大)

CYP3A 活性誘導作用の無い、非 statin 高脂血症治療薬 Probuco, 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%、Probuco 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、Probuco 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 Probuco 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功効したものと考えられた。

7) 抗酸化剤

① 常用量のグルタチオンによるステロイド性骨壊死の抑制効果の検討(金沢医科大)

以前、抗酸化剤である還元型グルタチオンの大量投与により骨壊死発生を抑制したことを報告した。今回は臨床応用を考え、

常用量のグルタチオン投与による骨壊死抑制効果について検討した。家兎にステロイドを投与した群では 70%に骨壊死が発生したが、ステロイド投与後、常用量グルタチオンを投与した群では骨壊死発生が認められなかった。大量のステロイドを投与した群でも、グルタチオン投与により、骨壊死発生率が 90%から 30%に減少した。常用量グルタチオン投与により骨壊死発生を有意に抑制できた。

C 骨頭壊死発生後の病態解明

8) マウス骨壊死モデルの開発とその解析(東大)

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。

4 評価

1) 達成度について

当該期間における目標を達成していると思われる。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

特にステロイド性大腿骨頭壊死症における病因、病態について、より深く解明され、国際的にも評価されるものと思われる。さらに予防的研究結果も複数得られており、臨床における疾患予防につながっていくものと思われる。

3) 今後の展望について

骨頭内における阻血のメカニズムについてより研究が進んでいくことが期待される。高脂血症や酸化ストレスについての研究が進み、より有効な予防方法を検討する為の動物モデルにおける予防研究もさらに進んでいくことが期待される。さらに、骨壊死発生後の動物モデルでは細胞内変化についての詳細なメカニズムが明らかになっていくことが期待される。

4) 研究内容の効率性について

病因、病態研究は、もうひとつの予防研究に直接つながっていくものであり、効率的な研究が行われていると思われる。

5 結論

ステロイド性大腿骨頭壊死症では、ステロイド投与により高脂血症や酸化ストレスなどが起こり、骨頭内の微小環境にて脂肪塞栓などの機序による阻血にて骨壊死が発生していることが考えられた。動物モデルにおいて高脂血症や酸化ストレスなどを薬剤にて治療すると骨壊死の発生率を減少させることができた。より詳しい病因病態解析やより効果的な予防方法開発の為に、さらなる検討が必要であると思われる。

腎移植患者の骨壊死発生の危険因子

高尾正樹、菅野伸彦、西井孝、三木秀宣、小山毅、花之内健仁、中村宣雄、吉川秀樹
(大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科学)

1986年から2003年にかけて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い、11例(4.7%)に骨壊死発生を認めた。今回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をおこなった。

1. 研究目的

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¹⁻⁴⁾、その発生時期は移植後早期の2-12wと報告されている⁵⁾。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. 研究方法

1986年から2003年にかけて当院で腎移植を行った332例のうち、両股関節、両膝関節のMRIスクリーニングをおこなった233例(70.2%)を対象とした。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^{6,7)}。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オッズ比の算出をおこなった。P<0.05を統計学的に有意とした。

3. 研究結果

MRI screeningの結果、大腿骨頭壊死症を8例、大腿

骨顆部壊死症を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(表1)、年齢、性別、体重、免疫抑制剤では有意なオッズ比の変化は認めず、死体腎で有意なオッズ比の上昇を認め、オッズ比は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日平均投与量いずれにおいても有意なオッズ比の変化を認めなかった。移植腎機能との関連であるが、移植後1週以内に透析を要するdelayed graft function(DGF)で有意なオッズ比の上昇を認め、オッズ比は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オッズ比はそれぞれ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オッズ比の変化を認めなかった。

DGF症例と骨壊死発生との関連を見るために、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で有意なオッズ比の上昇を認めオッズ比は6.41倍(95%CI; 1.21-33.3)であった(表2)。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。

4. 考察

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^{6,7)}。エンドセリンが分泌され血管収縮を起こしやすくなることも報告されている⁶⁾。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。

表1. 単変量解析結果

| 変量 (単位) | Crude OR (95%CI) | P Value |
|-----------------------|---------------------|---------|
| 年齢 (歳) | 1.05 (0.99-1.12) | 0.11 |
| 男性 | 1.65 (0.43-6.38) | 0.47 |
| 体重 (kg) | 1.01 (0.95-1.09) | 0.68 |
| 死体腎 | 5.05 (1.39-19.5) | 0.01 |
| 免疫抑制剤:Tacrolimus | 0.62 (0.12-2.92) | 0.54 |
| 総ステロイド投与量(g) | 1.35 (0.96-1.91) | 0.08 |
| MP 大量静注量(g) | 1.52 (0.96-2.39) | 0.07 |
| MP 大量静注回数 (回) | 1.16 (0.97-1.39) | 0.09 |
| PSL 一日平均量(5mg) | 1.02 (0.58-1.80) | 0.94 |
| DGF | 8.19 (2.27-29.4) | 0.001 |
| 血清 Cr (mg/dl) (6w) | 1.60 (1.12-2.30) | 0.009 |
| 血清 BUN (10mg/dl) (6w) | 1.45 (1.14-1.85) | 0.002 |
| 急性拒絶反応 | 1.80 (0.53-6.11) | 0.34 |

MP、メチルプレドニゾン
PSL、プレドニゾン

表2. 多変量解析結果

| 変量 (単位) | Adjusted OR (95%CI) | P Value |
|---------------|------------------------|---------|
| 死体腎 | 1.85 (0.38-9.00) | 0.44 |
| 総ステロイド投与量 (g) | 1.37 (0.92-2.03) | 0.11 |
| DGF | 6.41 (1.21-33.3) | 0.02 |

5. 結論

腎移植 233 例の MRI screening にて、11 例に骨壊死 (4.7%) を認め、移植早期に腎機能が不良である DGF 症例で骨壊死発生が有意に多かった。

6. 研究発表

- 論文発表
なし
- 学会発表
 - 高尾 正樹、菅野 伸彦、西井 孝、三木 秀宣、小山 毅、花之内 健仁、吉川 秀樹：腎移植患者の骨壊死発生の危険因子。第 32 回日本股関節学会、新潟、2005.11.7.

7. 知的所有権の取得状況

- 特許の取得
なし
- 実用新案登録
なし
- その他
なし

8. 参考文献

- Kopecky KK, Braunstein EM, Brandt KD, Filo RS, Leapman SB, Capello WN, Klatte EC. Apparent avascular necrosis of the hip: appearance and spontaneous resolution of MR findings in renal allograft recipients. *Radiology*. 1991;179:523-7.
- Mulliken BD, Renfrew DL, Brand RA, Whitten CG. Prevalence of previously undetected osteonecrosis of the femoral head in renal transplant recipients *Radiology*. 1994;192:831-4.
- Le Parc JM, Andre T, Helenon O, Benoit J, Paolaggi JB, Kreis H. Osteonecrosis of the hip in renal transplant recipients. Changes in functional status and magnetic resonance imaging findings over three years in three hundred five patients. *Rev Rhum Engl Ed*. 1996;63:413-20.
- Lopez-Ben R, Mikuls TR, Moore DS, Julian BA, Bernreuter WK, Elkins M, Saag KG. Incidence of hip osteonecrosis among renal transplantation recipients: a prospective study. *Clin Radiol*. 2004;59:431-8.
- Kubo T, Yamazoe S, Sugano N, Fujioka M, Naruse

S, Yoshimura N, Oka T, Hirasawa Y. Initial MRI findings of non-traumatic osteonecrosis of the femoral head in renal allograft recipients. *Magn Reson Imaging*. 1997;15:1017-23.

- 6) Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation *Lancet*. 2004;364:1814-27.
- 7) Pieringer H, Biesenbach G. Risk factors for delayed kidney function and impact of delayed function on patient and graft survival in adult graft recipients. *Clin Transplant*. 2005;19:391-8.

腎移植後大腿骨頭壊死症の統計解析

柴谷匡彦、藤岡幹浩、新井祐志、上島圭一郎、高橋謙治、浅野武志、末原 洋、平田哲朗
石田雅史、中村文紀、濱口裕之、小嶋晃義、阪尾敬、栗林正明、齋藤正純、今井 寛
久保俊一 (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)
福島若葉、廣田良夫 (大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学)

われわれの施設では腎移植症例に対して特発性大腿骨頭壊死症(以下 ION)のスクリーニングを行っている。今回、ION 発生リスクに関与する因子を多変量解析を用いて検討した。移植時年齢が高いことでわずかに ION リスクは増加した。高容量ステロイド投与プロトコルが ION リスクを約 3.2 倍に増加させた。しかし、免疫抑制剤の種類および急性拒絶反応に対するステロイドパルス療法はリスクに影響を与えなかった。

1. 研究目的

1989 年から、われわれは腎移植症例を対象に ION のスクリーニングを行っている。平成 12 年度の班研究において、われわれは大阪大学と京都府立医科大学の二施設で腎移植症例の統計解析を行い、比較検討した¹⁾。その結果、ステロイド総投与量が ION の発生に強く影響していることが確認できた。

最近、本学の腎移植症例における ION 発生率が減少してきている傾向があるため、前回の研究以後の症例も加えて再度統計学的な検討を行い、ION 発生が減少している理由を考察した。

2. 対象および方法

1989 年 2 月から 2005 年 3 月までの京都府立医科大学移植外科の腎移植症例 325 例のうち、ION のスクリーニングを施行できた 211 症例を対象とした。追跡率は 65.5%であった。男性 149 例、女性 62 例、移植時年齢は平均 36.4 歳であった。ION の判定は全例 MRI で行った。

検討項目は、移植時年齢、性別、併用免疫抑制剤(シクロスポリンとタクロリムス)、移植腎の種類、急性拒絶反応に対するステロイドのパルス投与の有無、HLA マッチング数、そして経ロステロイド投与量とそのプロトコルとした。

統計学的解析はロジスティック回帰モデルを用いて単変量解析および多変量解析を行った。いずれも

95%信頼区間とした。

3. 研究結果

ION の発生は 35 症例に認められた。非発生例は 176 例であった。

経ロステロイド投与量は体重などに応じて細かく調節されるのではなく、全ての症例に対して投与プロトコルは図 1 に示す 3 種類のみを設定となっていた。術後 28 日までのステロイド総投与量を算出すると、large で 1015mg、middle で 895mg、small で 815mg であった。経時的に、より投与量の少ないプロトコルが使われるようになってきており、使用期間に多少の重複はあるが、おおよそ 1989 年 2 月から 1996 年 7 月頃までは large、1996 年 8 月頃から 2001 年 12 月頃までは middle、2001 年 12 月頃以降は small のプロトコルが使用されていた。平成 12 年度の前回調査時には、まだ small のプロトコルは使用されていなかった。

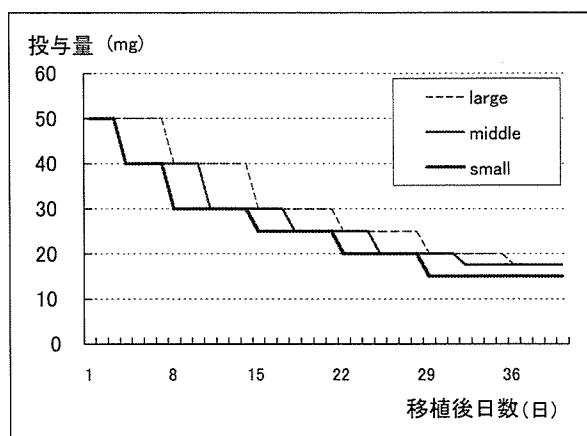


図1 ステロイド投与プロトコール

統計学的検討の結果を表1に示す。移植時年齢に関しては、年齢が高くなるとオッズ比(odds ratio、以下OR)が Adjusted OR = 1.045 ($p = 0.0184$)とごく軽度ではあるが有意に上昇した。性別については有意差は得られなかった。免疫抑制剤については、タクロリムスに対するシクロスポリンのION発生に関するORは Adjusted OR = 1.582であったが、有意ではなかった($p = 0.2450$)。移植腎の種類では Adjusted OR = 1.298 ($p = 0.7143$)、急性拒絶反応に対するパルス投与の影響はパルス投与のない症例に対して Adjusted OR = 0.721 ($p = 0.5523$)、そしてHLAマッチング数についても Adjusted OR = 0.855 ($p = 0.7963$)と、これらの項目については有意差は得られなかった。経口ステロイド投与量のプロトコールに関しては、IONの発生率を比較すると、現在用いられているsmallに対してmiddleでは有意なORの上昇を認めなかったが、largeで Adjusted OR = 3.197 ($p = 0.0479$)とORが有意に上昇した。

4. 考察

われわれは、平成12年度研究報告書¹⁾で、2施設のステロイド投与量や併用免疫抑制剤を調査して、腎移植後IONの発生率について検討を行った。そして、腎移植後8週でステロイド投与量とION発生間に有意な関係があることを確認した。平成16年度研究報告書において田中ら²⁾は、経口ステロイド投与歴のある症例は、投与歴のない症例に対してION発生率のORが13.5 ($p = 0.000$)であり、ION発生に対してステロイド投与の影響が非常に強いことを示した。また、坂井ら³⁾は腎移植症例に関して、タクロリムス使用群とシクロスポリン使用群の間で比較を行い、ステ

ロイド総投与量およびパルス投与量のいずれにも有意差がないにもかかわらず、両群間にION発生率の明らかな差を認めたことから、免疫抑制剤の選択によってION発生を抑制できる可能性を報告した。急性拒絶反応に対するパルス投与とION発生率の関与に関する報告では、廣田ら⁴⁾は平成10年度研究報告書で症例・対照研究を行い、パルス投与量についてORの有意差を認めなかったとした。

今回の研究結果では、経口ステロイド投与プロトコール間で、ORに有意差を認めた。すなわち術後28日までの経口ステロイド総投与量とION発生間に有意な関係があることが確認できた。免疫抑制剤の違いや急性拒絶反応に対するパルス投与の有無についてはわれわれの先の報告¹⁾と同様、ORに有意差を認めなかった。ION発生において、免疫抑制剤や急性拒絶反応に対するパルス投与の影響は否定できないが、ステロイド投与量がより強い影響力を持つと考える。

経口ステロイド投与プロトコールのlargeとsmallの間でION発生率に有意差を認めたが、これまでの報告と異なって注目すべきことは、largeとsmallの違いは術後28日までの投与量であることと、その投与量はそれぞれ1015mgと815mgで差は28日間で200mgのみとごくわずかであることである。28日以後のステロイド投与量はほぼ同一でありプロトコール間でほとんど差はない。すなわち、術後28日までという早期のステロイド投与量がION発生率に有意に影響することが確認できた。これは、IONの予防時期を考える上で大切な事実であり、IONを予防できる時期はステロイド投与開始直後のごく限られた時間でしかないことを示している。また、28日間の合計で200mg(28日間の総投与量の約20~25%、1日平均投与量で考えると約7mg)というわずかなステロイド投与量の違いがION発生率に有意に影響することも判明した。このことは投与量の微妙なコントロールでION発生を抑制できる可能性を意味し、遺伝子診断やステロイド代謝酵素活性の測定などによってステロイド投与量を調節して個別化を行うこと(tailor made medicine)の重要性を示すものであると考える。

5. 結論

腎移植症例を対象としてION発生の危険因子について統計学的に検討した。ION発生と免疫抑制剤、急性拒絶反応に対するパルス投与との関連は認めな