

の傾向であったが、「ステロイド全身投与歴あり」「両方あり」では、60%以上が両側罹患例であった。一方、「両方なし」では、片側罹患が78%と多かった。

「両方なし」症例に限定した場合、男女比は4:6であり、男性は20-60歳代に分布しているのに対して、女性は40-80歳代に分布していた(図13)。

表1 性別人数と平均年齢

	男性	女性
人数	139人	79人
比	64%	36%
平均年齢	50.2歳	58.9歳
年齢幅	18-82歳	22-85歳

図1 年齢分布

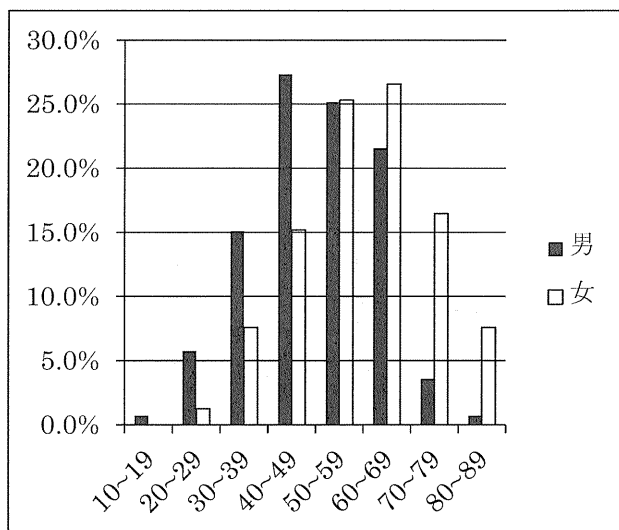


図2 社会活動

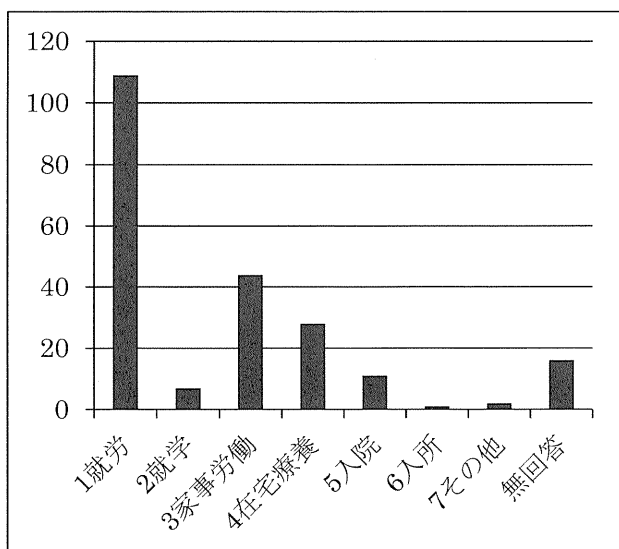


図3 日常生活

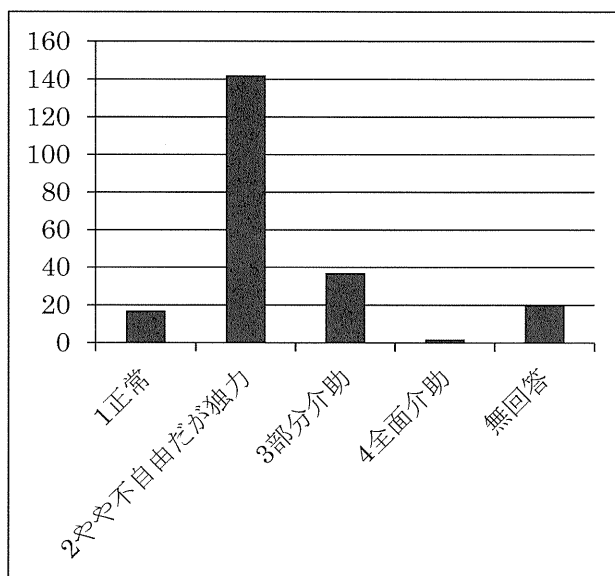


図4 家族歴

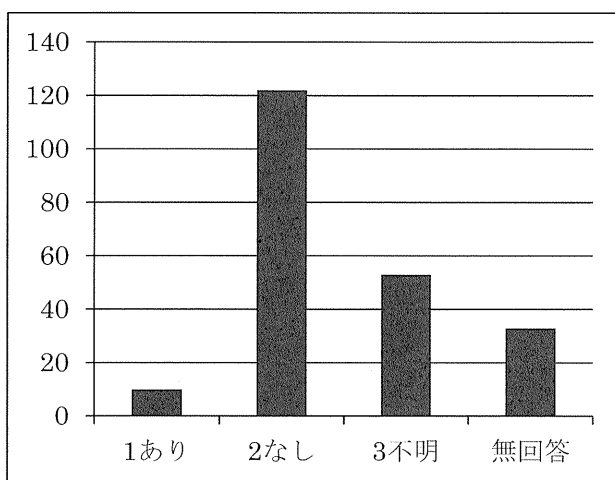


図5 罹患側

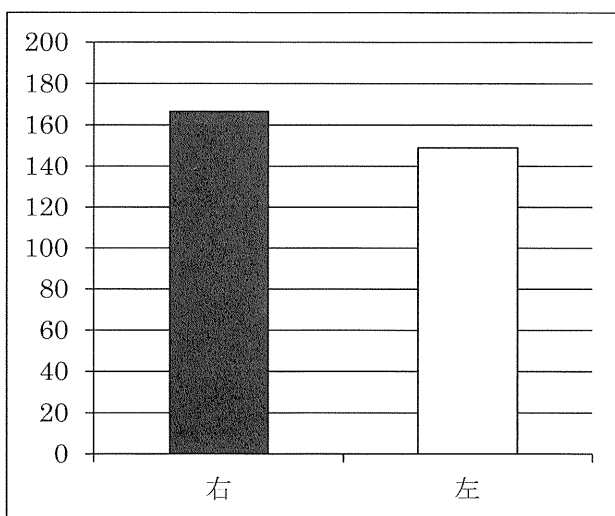


図6 画像所見

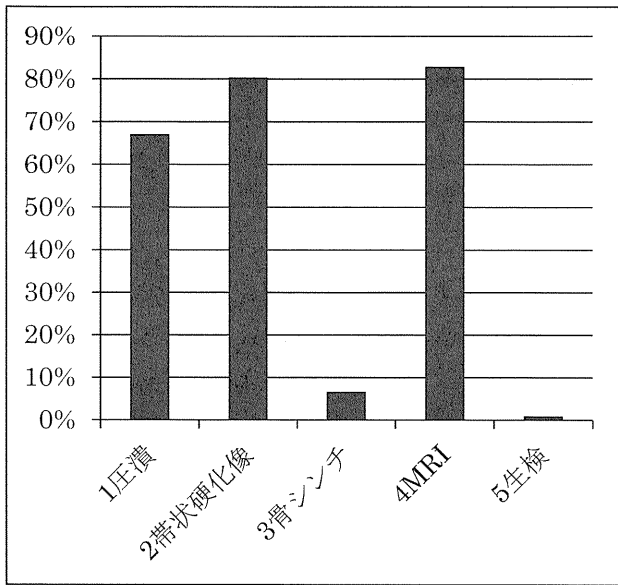


図9 手術法

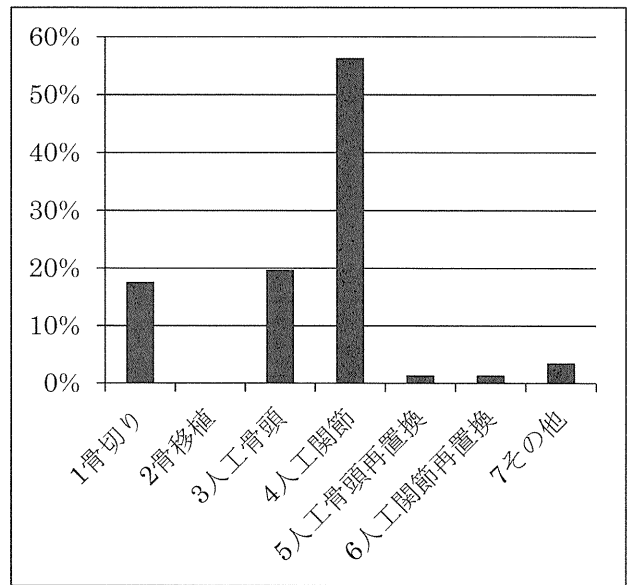


図7 病期

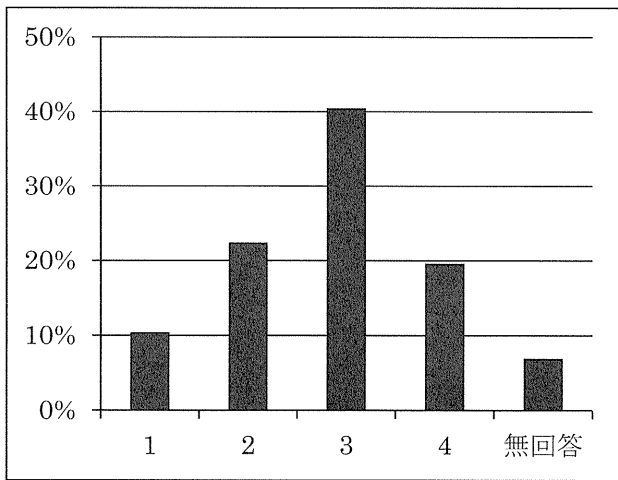


図10 誘因

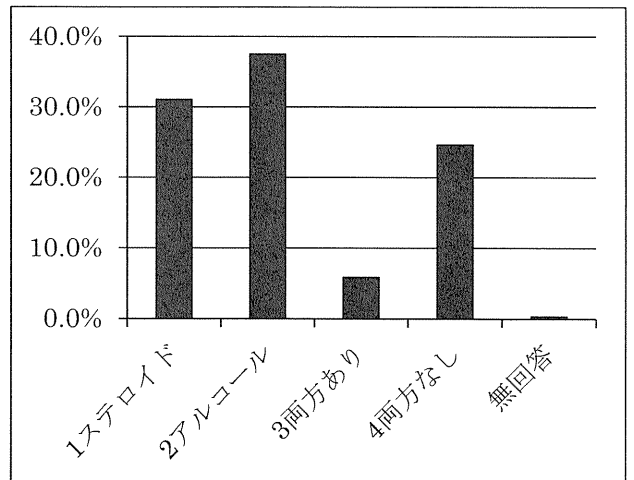


図8 病型

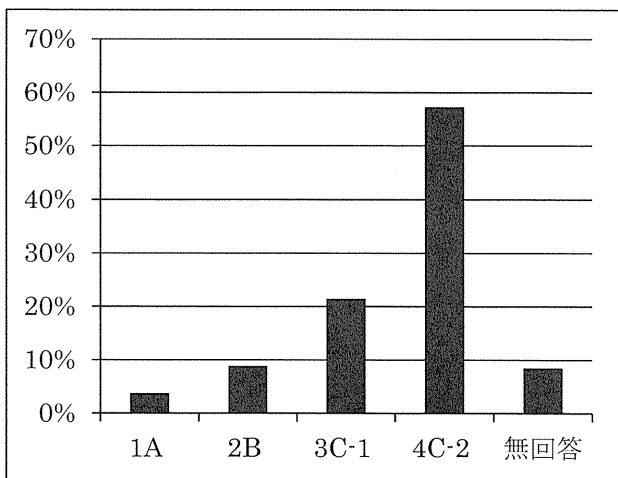


図11 ステロイド使用期間

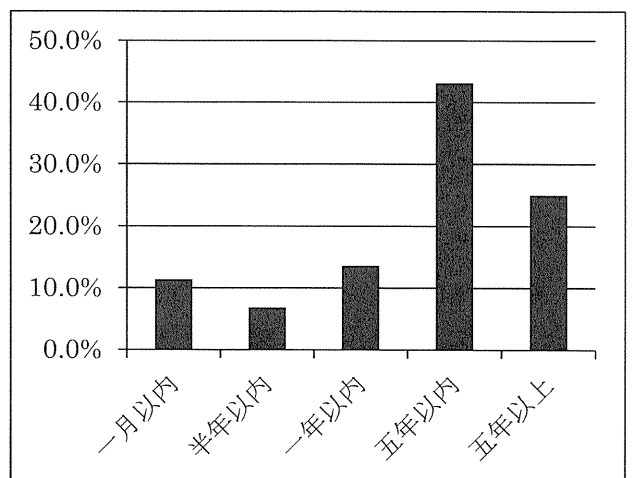


図 12 アルコール量

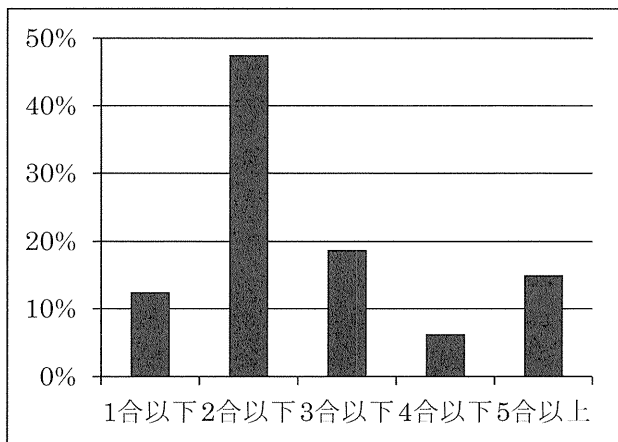
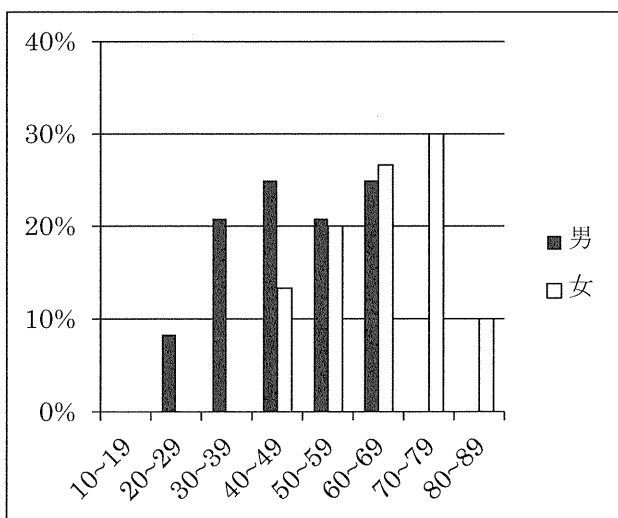


図 13 誘因「両方なし」症例の年齢分布



#### 4. 考察

わが国における ION の疫学調査として、これまでに全国疫学調査、定点モニタリング調査が行われてきた<sup>2-5)</sup>。一方、ION は特定疾患治療研究事業において特定疾患に指定されており、臨床調査個人票に基づいて医療費受給のための登録認定が行われている。厚生労働省特定疾患の疫学に関する研究班は、この臨床調査個人票データに基づいて特定疾患全体の受給動向について経年的に報告している<sup>6, 7)</sup>。また、いくつかの特定疾患では、臨床調査個人票を用いた詳細な疫学調査が報告されており、大野らは特発性間質性肺炎の全国疫学調査結果を報告し<sup>8)</sup>、松永らは鹿児島県における頸椎後縦靭帯骨化症患者の実態調査結果を報告している<sup>9)</sup>。我々は過去に臨床調査個人票を用いて福岡県における新規 ION 認定患者の性・年齢分布を調査し、日本人口における年齢調整罹患率が年間人口 10 万人あたり 2.51 人であることを推定したが<sup>1)</sup>、本調査では、ION

に関するさらに詳細な記述疫学調査を行った。

本調査によって、臨床調査個人票の記載項目である患者基本情報、画像所見、治療法、誘因についての詳細な調査結果が得られた。本調査結果をこれまでの ION 疫学調査と比較すると、性比や病期、病型などの多くの点で類似した結果が得られたが、年齢分布や誘因などはやや異なっていた。その要因としては、ION 患者動向の経年的な変化、他の特定疾患同時罹患患者の除外、他疾患の混入などが影響しているかもしれない。特に誘因「両方なし」症例は片側罹患例、女性が多く、年齢層も高いという結果であり、大腿骨頭脆弱性軟骨下骨骨折症例が混入されている可能性も考えらえる。

臨床調査個人票を用いた疫学調査の利点としては、厚生労働省データベースの既存情報が利用できる簡便性、全国規模や地域ごとの患者特性の把握が可能な点、さらに経年的な変化の調査が可能な点などが考えられる。調査結果の取り扱い、解釈については、注意を要する点があるものの、臨床調査個人票を用いた記述疫学調査は、ION 患者特性の把握に有用な調査法の一つになりうると考えられた。

#### 5. 結論

福岡県にて新規認定された特発性大腿骨頭壊死症患者について、臨床調査個人票を用いて記述疫学調査を行った。本調査法は、ION 患者特性の把握に有用な調査法の一つになりうると考えられた。

#### 6. 研究発表

1. 論文発表
  - 1) Yamaguchi R, Yamamoto T, Motomura G, Ikemura S, Iwamoto Y. MRI-detected Double Low-Intensity Bands in Osteonecrosis of the Femoral Head. J Orthop Sci. 2011 Jul;16(4):471-5
  - 2) Yamaguchi R, Yamamoto T, Motomura T, Ikemura S, Iwamoto Y. Effects of an Antiplatelet Drug on the Prevention of Steroid-Induced Osteonecrosis in Rabbits. Rheumatology (Oxford). 2011 Jul 8 in press
  - 3) Yamaguchi R, Yamamoto T, Motomura T, Ikemura S, Iwamoto Y. Incidence of Non-Traumatic Osteonecrosis of the Femoral Head in the Japanese Population. Arthritis Rheum. 2011 Oct;63(10):3169-73.
2. 学会発表

- 1) Yamaguchi R, Yamamoto T, Motomura G, Ikemura S, Iwasaki K, Zhao G, Iwamoto Y. Effects of an Antiplatelet Agent on the Prevention of Steroid-Induced Osteonecrosis in Rabbits. ORS Annual meeting 2011. January 13-16, 2011, Long Beach, CA, USA
- 2) 山口亮介、山本 卓明、本村 悟朗、池村聡、岩崎賢優、趙ガリダ、岩本幸英: ステロイド性骨壊死家兎モデルにおける抗血小板薬の骨壊死発生予防効果. 第 84 回日本整形外科学会学術総会 2011.5.12-15 横浜.
- 3) 山口亮介、山本卓明、中島康晴、馬渡太郎、糸川高史、本村悟朗、池村聡、岩崎賢優、岩本幸英: 一過性大腿骨頭萎縮症の骨頭内発生部位. 第 84 回日本整形外科学会学術総会 2011.5.12-15 横浜.
- 4) 山口亮介、山本卓明、中島康晴、馬渡太郎、糸川高史、本村悟朗、池村聡、岩崎賢優、岩本幸英: 一過性大腿骨頭萎縮症における骨髄浮腫像の発生部位. 第 121 回西日本整形・災害外科学会学術集会 2011.6.11,12 福岡
- 5) 山口亮介、山本卓明、本村悟朗、池村聡、岩崎賢優、趙ガリダ、岩本幸英: 成熟度の異なる家兎におけるステロイド性骨壊死発生率の差. 第 38 回日本股関節学会 2011.10.7,8 鹿児島
- 6) 山口亮介、山本卓明、本村悟朗、池村聡、岩崎賢優、趙ガリダ、岩本幸英: 家兎における抗血小板薬のステロイド性骨壊死発生抑制効果. 第 38 回日本股関節学会 2011.10.7,8 鹿児島
- 7) 山口亮介、山本卓明、本村悟朗、池村聡、岩崎賢優、趙ガリダ、岩本幸英: 未成熟及び成熟家兎におけるステロイド性骨壊死の検討. 第 26 回日本整形外科学会基礎学術集会 2011.10.20,21 群馬
- 8) 山口亮介、山本卓明、本村悟朗、池村聡、岩崎賢優、趙ガリダ、岩本幸英: 抗血小板薬によるステロイド性骨壊死予防効果の検討. 第 26 回日本整形外科学会基礎学術集会 2011.10.20,21 群馬
- 9) 山口亮介、山本卓明、中島康晴、馬渡太郎、糸川高史、本村悟朗、池村聡、岩崎賢優、岩本幸英: 一過性大腿骨頭萎縮症の MRI における骨髄浮腫像の検討. 第 26 回日本整形外科学会基礎学術集会 2011.10.20,21 群馬

## 7. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

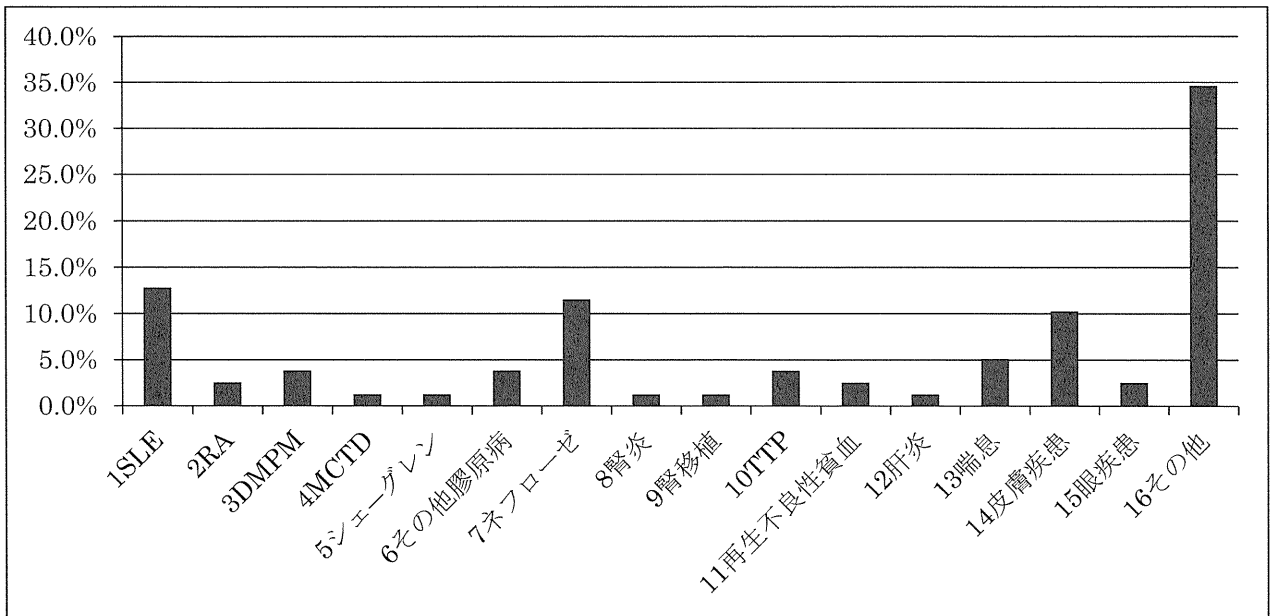
## 8. 参考文献

- 1) Yamaguchi R, Yamamoto T, Motomura T, Ikemura S, Iwamoto Y. Incidence of Non-Traumatic Osteonecrosis of the Femoral Head in the Japanese Population. Arthritis & Rheumatism. 2011 in press
- 2) Matsuo K, Hirohata T, Sugioka Y, Ikeda M, Fukuda A. Influence of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status on idiopathic osteonecrosis of the femoral head. Clin Orthop Relat Res 1988;234:115-23.
- 3) Hirota Y, Hirohata T, Fukuda K, Mori M, Yanagawa H, Ohno Y, et al. Association of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status with the risk of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. Am J Epidemiol 1993;137(5):530-8.
- 4) Fukushima W, Fujioka M, Kubo T, Tamakoshi A, Nagai M, Hirota Y. Nationwide epidemiologic survey of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. Clin Orthop Relat Res. 2010 Oct;468(10):2715-24.
- 5) Sakaguchi M, Tanaka T, Fukushima W, Kubo T, Hirota Y; Idiopathic ONF Multicenter Case-Control Study Group. Impact of oral corticosteroid use for idiopathic osteonecrosis of the femoral head: a nationwide multicenter case-control study in Japan. J Orthop Sci. 2010 Mar;15(2):185-91
- 6) 永井正規, 柴崎智美, 玉腰暁子編: 全国疫学調査のまとめ. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 特定疾患の疫学に関する研究班, 2006.
- 7) 永井正規, 太田晶子, 仁科基子, 柴崎智美編: 電子入力された臨床調査個人票に基づく特定疾患医療受給者調査報告書. 厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 特定疾患の疫学に関する研究班, 2005.
- 8) 大野彰二, 中屋孝清, 坂東政司, 杉山幸比古: 臨

床調査個人票に基づく特発性間質性肺炎の全国疫学調査. 日呼吸会誌 45(10):759-65, 2007.

- 9) 松永俊二, 林協司, 米和徳, 小宮節郎: 頰椎後縦靱帯骨化症の特定疾患申請に関する実態調査. 臨床整形外科 40(3):253-6, 2005.

図14 ステロイド使用疾患



その他 27 例 (35%) 内訳

- 突発性難聴 5
- 骨髄移植 3
- 腸疾患 3
- 間質性肺炎 3
- スティル病 2
- 顔面神経麻痺 2

# 愛知県における大腿骨頭壊死症の発生頻度

長谷川幸治、池内一磨、関泰輔、加納稔也、松岡篤史、石黒直樹  
(名古屋大学 整形外科)

2010年8月から1年間に愛知県で申請された特発性大腿骨頭壊死症を前向きに検討し、申請例から見た愛知県または日本での特発性大腿骨頭壊死症の発生頻度を推計した。

## 1. 研究目的

愛知県では特発性大腿骨頭壊死症の申請の際に申請用紙とともにレントゲンとMRIの提出を義務付けている。提出された申請資料を基に、著者の1人が認定作業を行い、最終的な認定を行っている。大腿骨頭壊死症でないと判断された申請例は認定されない、または追加資料を提出することで再審査されるため、実際の申請数より実数は少なくなる可能性が高い。本研究の目的は、2010年8月から1年間に愛知県で申請された特発性大腿骨頭壊死症を前向きに検討すること、また申請例から見た愛知県または日本での特発性大腿骨頭壊死症の発生頻度を推計することである。

## 2. 研究方法

特定疾患審査委員会からの申請用紙とレントゲンおよびMRIの画像を評価した。愛知県特定疾患審査委員会ではSLEなどの他の疾患でも手術を必要とする症例は、特発性大腿骨頭壊死症として二重に登録することとなっている。項目は、申請用紙からのデータとして、年齢、性別、申請までの期間、病型分類、病期、大項目診断基準5項目の評価、検査の有無、治療法などについて検討した。添付されたレントゲン画像とMRI画像を評価した。MRIなどに資料が不足していた7例は保留判定とし、追加資料にて判定した。

## 3. 研究結果

申請用紙から研究班診断基準を満たし、特発性大腿骨頭壊死症と申請されたのは105例であった。除外例は、再申請の3例とした。全例レントゲン検査がなされ、99例(94%)にMRI検査がなされていた。このうちレントゲン検査やMRI検査から特発性大腿骨頭壊死症では

ないと診断したのは13例(12.4%)であった。内訳は、変形性股関節症7例、脆弱性骨折2例、関節炎2例、骨端異形成症1例、外傷1例であった。89例を新規の特発性大腿骨頭壊死症と診断した。

研究対象は、新規申請例の89例とした。申請時の平均年齢52.2歳(23-83)、男性57例(平均年齢51.7歳)、女性32例(平均年齢53.2歳)、発症から申請までの期間26.4ヶ月(0-215)、両側52例、片側37例であった。片側例は右20例、左17例であった。病因はステロイド性50例(平均年齢53.7歳、男性26例 女性24例)、アルコール性25例(平均年齢48.0歳、男性20例 女性5例)、ステロイド+アルコール性4例(平均年齢46歳、男性3例 女性1例)、狭義の特発性10例(平均年齢57.6歳、男性8例 女性2例)であった。ステロイド性の基礎疾患としては、SLE9例(16.7%)、ITP・多発性筋炎・ネフローゼ症候群が各5例(9%)、間質性肺炎・気管支喘息・腎炎・白血病・皮膚疾患が各3例、他15例であった。ステロイド性と判断した症例のなかで、ステロイドの投与期間と最大投与量が判明した31例の平均投与期間は36.4ヶ月(1-240)で、平均最大投与量は45.6mg(5-300)だった。アルコール性と判断した症例のなかで、飲酒歴と摂取量が判明した27例の平均飲酒歴は22.4年(3-56)で、平均摂取量は3.6合(1-15)だった。

研究班 type 分類は、正常37関節、A: 4関節、B: 14関節、C1: 36関節、C2: 86関節、不明1関節(右は正常20関節、A: 1関節、B: 7関節、C1: 22関節、C2: 38関節、不明1関節、左は正常17関節、A: 3関節、B: 7関節、C1: 14関節、C2: 48関節)であった。Stageは正常37関節、Stage 1: 21関節、Stage 2: 38関節、Stage 3: 51関節、Stage 4: 30関節、不明1例【右は正常20関節、

Stage 1: 11 関節、Stage 2: 19 関節、Stage 3: 24 関節、Stage 4: 14 関節、不明 1 例、左は正常 17 関節、Stage 1: 10 関節、Stage 2: 19 関節、Stage 3: 27 関節、Stage 4: 16 関節)であった。

シンチグラムの検査は 88 例中 13 例(14.8%)で行われ、10 例 14 関節が陽性所見(cold in hotの所見)であった。

特発性大腿骨頭壊死症の診断基準を満たさなかった症例(変形性股関節症 7 例、脆弱性骨折 2 例、骨端異形成症による変形性股関節症 1 例、原因不明の関節炎 2 例、外傷 1 例)のうち、8 例ではレントゲンで関節症変化があることの除外ができておらず、1 例で外傷が原因であることの除外ができていなかった。2 例は明らかに関節の消失があるので何らかの関節炎または関節症と診断できた。脆弱性骨折はMRIで鑑別が可能であった。

治療法は正常 37 関節を除いた 141 関節中、保存療法 92 関節、人工股関節置換術 35 関節、骨切り術 7 関節、人工骨頭置換術 7 関節であった。

愛知県(人口 2011 年推計 741 万人)での申請件数は 1 年間で 89 例であった。ここから 1 年間に日本(2011 年推計 1 億 2806 万人)で発生する特発性大腿骨頭壊死症は 1538 例と推定された。

#### 4. 考察

2004 年における新患者数は 2200 人/年と推定されている。今回愛知県の認定数からの日本での発生予測は 1538 人/年である。受理されなかった申請例や再申請例も含めると発生予測は 1814 人/年へ増加する。特発性大腿骨頭壊死症として申請されていたが、実際は特発性大腿骨頭壊死症でない判断された例は申請全体数の約 12%にのぼる。申請に対するチェックがない場合は変形性股関節症や高齢者の増加に伴って増加している大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折を特発性大腿骨頭壊死症と申請している可能性が高く、申請数より実数が少なくなる可能性が高い。一方、ステロイド性大腿骨頭壊死症では基礎疾患(SLEなどの自己免疫性疾患など)にて特定疾患の申請がなされ、特発性大腿骨頭壊死症を申請せずに治療が行われている可能性もあり、実際の患者数は予想値よりも多いと考えられる。実際にステロイド使用例で股関節の検査・治療を受けているかの調査が今後は必要であり、内科医との連携が重要である。

経口コルチコステロイド投与群における骨壊死のリス

クが非投与群に比べて約 20 倍であるが<sup>1)</sup>、ステロイド性大腿骨頭壊死症の代表的な原因疾患であるSLEにおける症候性骨壊死の発生率に関する報告は 3~30%と変動が大きい。リスクのある無症候性の患者に対してスクリーニングをするかどうかはまだ明らかにされてはいないが、高用量ステロイド使用のSLE患者でのMRIスクリーニング研究論文では 72 例中の 44%が 3.1 か月後に股関節と膝関節に病変を認めたと報告されている。無症候性だと有病率はさらに上昇すると思われる。予後が疾患のstageとtypeに依存しており、早期発見は予後に影響を及ぼすため、ステロイドパルス療法を行った患者や中等量以上のステロイド常用患者への対策は必要である。

#### 5. 結論

愛知県での申請件数は 1 年間で 105 例であった。審査の結果、13 例は他の疾患であった。愛知県における特発性大腿骨頭壊死症は 89 例であった。日本における 1 年間の発症数は 1538 例と推定された。

#### 6. 研究発表

##### 1. 論文発表

著書

- 1) 増井徹男、長谷川幸治: 大腿骨骨切り術での SSI 発症時の対応整形外科 SSI 対策. 菊池臣一・楠正人編 医学書院(東京)pp230-235,2010
- 2) 長谷川幸治: 大腿骨転子間湾曲内反骨切り術. 特発性大腿骨頭壊死症 久保俊一・菅野伸彦編 金芳堂(京都)pp192-198,2010

英語論文

- 1) Yukiharu Hasegawa, Tetsuo Masui, Jin Yamaguchi, Toshiya Kanoh, Taisuke Seki, Kiyoharu Kawabe. A Joint Space wider than 2 mm is Essential for an Eccentric Rotational Acetabular Osteotomy for Adult Hip Dysplasia. J Orthop Sci 2010;15: 620-625.
- 2) Yukiharu Hasegawa, Puyi Sheng, Toshiya Kanoh, Taisuke Seki, Atsushi Matsuoka. Polyethylene liner scratch following revision hip arthroplasty performed after ceramic fracture -A case report-. J Arthroplasty *in press*
- 3) Kanoh T, Hasegawa Y, Masui T, Yamaguchi J, Ishiguro N, Kawabe K. Accurate acetabular



component orientation after total hip arthroplasty using an acetabular alignment guide. J Arthroplasty 2010;25:81-86.

- 4) Seki T, Hasegawa Y, Masui T, Yamaguchi J, Kanoh T, Ishiguro N. Association of serum carotenoids, retinol and tocopherols with radiographic knee osteoarthritis: Possible risk factors in rural Japanese inhabitants. J Orthop Sci (2010) 15:477-484.
- 5) Tsuboi M, Hasegawa Y, Matsuyama Y, Suzuki S, Suzuki K, Imagama S. Do musculoskeletal degenerative disease affect mortality and cause of death after 10 years in Japan? J Bone Miner Metab 2010 Aug 14 (Epub ahead of print)

#### 和文論文

- 1) 長谷川幸治、坪井真幸、加納稔也、関泰輔、松岡篤史: Greater trochanteric pain syndrome. Hip Jpoint 36:40-43, 2010.
- 2) 長谷川幸治: 特発性大腿骨頭壊死症に対する大腿骨転子間彎曲内反骨切り術. 現代医学 in press
- 3) 加納稔也、長谷川幸治、関泰輔、松岡篤史、河辺清晴、藤田寛二、坪井真幸: セメントレス人工股関節置換術における臼蓋コンポーネントのスクリュウ固定ウムによる設置角度について. Hip Joint 36:252-255, 2010.
- 4) 関泰輔、加納稔也、松岡篤史、長谷川幸治、坪井真幸、河辺清晴: 大腿骨頭壊死症に対する自家骨移植を併用した転子間彎曲内反骨切り術. Hip Joint 36:527-529, 2010.
- 5) 松岡篤史、長谷川幸治、加納稔也、関泰輔: 大腿骨頭加重部に発生した良性軟骨芽細胞腫に対して腫瘍切除と大腿骨頭回転骨切り術を行った一例. Hip Joint 36:582-587, 2010.
- 6) 関泰輔、長谷川幸治、加納稔也、松岡篤史: 強直性脊椎炎に対する人工股関節置換術. 人工関節学会雑誌 40:164-165, 2010.
- 7) 加納稔也、長谷川幸治、関泰輔、松岡篤史: Ceramic on ceramic 人工股関節置換術における早期脱臼率. 人工関節学会雑誌 40:78-79, 2010.
- 8) 松岡篤史、長谷川幸治、加納稔也、関泰輔: バーコードシステムによる同種骨管理. 人工関節学会雑誌 40:532-533, 2010.
- 9) 関泰輔、長谷川幸治、加納稔也、松岡篤史、坪井

真幸: JHEQ (日本整形外科股関節疾患評価質問表) に対する有用性の検討. Hip Joint 37:789-784.

#### 7. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

#### 8. 参考文献

なし

# 腎移植後の特発性大腿骨頭壊死症の発生率の変遷

阿部裕仁、高尾正樹、坂井孝司、西井孝、菅野伸彦  
(大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科学)

以前、1986年から2002年に当施設にて腎移植を施行した232例の特発性大腿骨頭壊死症(ION)の股関節MRIスクリーニングの結果について報告した。2003年以降74例の腎移植症例に対してIONの股関節MRIスクリーニングを施行した。今回、過去の報告と比較しION発生頻度が変化したかどうかの検証を行った。2002年以前ではIONを8例(3.5%)にみとめたが、2003年以降ではIONの発生を認めなかった。

## 1. 研究目的

腎移植後の特発性大腿骨頭壊死症(ION)の発生率はシクロスポリンAの導入後で減少し<sup>1,2)</sup>、その後タクロリムスが導入されさらに減少したと報告されている<sup>3,4)</sup>。免疫抑制療法の進歩とともに、腎移植後のIONの発生は減少傾向にある。我々は1986年から2003年に腎移植後のIONのMRIスクリーニングを施行し、232例中8例(3.4%)であったと報告した<sup>5)</sup>。また、術後1週間以内に透析を要するDelayed Graft Function (DGF)を呈する症例でION発生頻度が高いことを報告した。2002年より腎移植後の免疫抑制剤として抗CD25モノクローナル抗体(シムレクト、Novartis)が登場し、免疫抑制療法は大きく変化し、急性拒絶反応の減少、シクロスポリンAやタクロリムスなどのカルシニューニンインヒビターの投与量や、ステロイド投与量の減少が報告されている<sup>6)</sup>。しかし、ION発生頻度の変化については報告されていない。今回、2003年以後の腎移植の変遷と移植後ION発生頻度の変化について調査した。

## 2. 研究方法

2003～2011年の間に腎移植後に両股関節MRIを撮像した87例であった。男性48例、女性39例で平均年齢は41.4±13.3歳(11～67歳)、平均BMIは21.7±4.2であった。MRIは術後3ヵ月で撮像し、1.5-Tesla superconducting magnet (SMT150X; Shimadzu, Kyoto, Japan)を用いて撮像した。検討項目は、ION発生率と、患者背景として、性別、年齢、BMI、ABOおよびHLA不適合の有無、術前透析期間、移植腎(生体腎/献腎)、術後免疫抑制剤として、カルシニューニンインヒビター

(シクロスポリンA/タクロリムス)、シムレクト併用の有無、術後2,4,6,8週までのステロイド投与量(総投与量、プレドニゾロン(PSL)投与量、メチルプレドニゾロン(MPSL)投与量)を、術後腎機能として、DGFの有無、術後8週のBUN、Cr値、急性拒絶反応の有無、入院期間について調査した。急性拒絶反応は、前回採血時よりBUNの40%上昇およびCr20%上昇、1日尿量750ml以下、もしくは腎生検での診断である。それぞれの項目について2002年以前と、2003年以後を比較した。また、すべての症例を対象に腎移植のION発生のリスク因子を単変量および多変量解析を用いて検討した。

統計にMann-Whitney U test、Chi-Square test、ロジスティック回帰分析を使用し、 $p < 0.05$ を有意とした。

## 3. 研究結果

2003年以後のIONは87例中0例(0%)であった。発生頻度が自体少なく、症例数も少ないため有意差は認めなかったが(Chi-Square test,  $p=0.11$ )、減少傾向を認めた。2002年以前と患者背景の比較では、患者層の高齢化、ABOおよびHLA不適合症例の増加、生体腎移植の増加を認めた(表1)。術後免疫抑制剤の比較では、タクロリムスの使用頻度の増加、シムレクト併用症例の増加、2,4,6,8週いずれの時点までも術後ステロイド投与量の減少を認めた(表2)。高齢化や、ABO/HLA不適合移植などの腎移植そのもののリスクの上昇と、ステロイド投与量の減少にもかかわらず、術後腎機能は良好で、DGF症例の減少、術後8週でのBUN、Cr値の低下、急性拒絶反応の減少を認め、入院期間は有意に短

縮していた(表3)。

2002年以前の結果と、本研究の結果を総合し、ION発生の危険因子を調査した。単因子ごとの解析では、術後2週までの総ステロイド投与量、術後2週までの総MPSL投与量、DGFが有意な危険因子であった(表4)。年齢、性別、術後2週までのMPSL投与量、DGFに関して、多変量解析(ロジスティック回帰分析)を施行すると、術後2週までのMPSL投与量とDGFが危険因子であった(表5)。

表1:患者背景比較

	2002年以前 N=232	2003年以後 N=87	p value
性別(女性/男性)	89/143	39/48	0.31
年齢(歳)	34	41	<0.01
BMI	20	21	<0.01
ABO型不適合	14 (6%)	23 (26%)	0.01
HLA不適合(0-6個)	2	2.7	0.01
術前透析期間(月)	41	43	0.86
生体腎	190 (82%)	83 (95%)	<0.01

表2:術後免疫抑制剤使用状況比較

	2002年以前 N=232	2003年以後 N=87	p value
タクロリムス(術直後)	60 (26%)	40 (46%)	<0.01
タクロリムス(退院時)	74 (32%)	37 (43%)	<0.01
抗CD25抗体併用	10 (3%)	72 (83%)	<0.01
術後8週総ステロイド投与量(mg)	3206	1868	<0.01
術後8週総PSL投与量(mg)	1082	937	<0.01
術後8週総MPSL投与(mg)	1638	823	<0.01

表3:術後腎機能比較

	2002年以前 N=232	2003年以後 N=87	p value
Delayed Graft Function	24%	8%	<0.01
UN (mg/dl)(術後8週)	25	19	<0.01
Cr (mg/dl)(術後8週)	1.6	1.3	<0.01
急性拒絶反応(あり/なし)	49%	10%	<0.01
入院期間(日)	56	32	<0.01

表4:ION発生の危険因子解析(単因子解析)

ONFH関連因子	Crude OR (95%CI)	p value
性別	2.04 (0.41-10.29)	0.48
年齢	1.06 (0.95-1.06)	0.62
BMI	0.9 (0.70-1.17)	0.44
患者背景 HLA不適合	0.45 (0.43-1.47)	0.45
HD期間	1.0 (0.97-1.01)	0.62
ドナー腎	0.34 (0.08-1.49)	0.15
免疫抑制 タクロリムス(術直後)	0.31 (0.04-2.57)	0.28
タクロリムス(退院時)	0.59 (0.12-2.96)	0.52
抗CD25抗体投与	0.42 (0.05-3.41)	0.42
総ステロイド投与量(2週)	1.001 (1.000-1.002)	0.01
PSL投与量(2週)	1.002 (0.99-1.01)	0.73
MP投与量(2週)	1.01 (1.000-1.002)	0.01
術後経過 Delayed Graft Function	7.33 (1.7-31.6)	0.008
BUN術後8週	1.04 (1.01-1.07)	0.009
Cr術後8週	1.6 (0.95-2.79)	0.08
急性拒絶反応	2.5 (0.59-10.7)	0.21
入院期間	1.02 (0.99-1.04)	0.17

表5:ION発生の危険因子解析(多変量解析)

因子	Adjusted OR (95%CI)	p value
年齢	1.01 (0.95-1.08)	0.71
性別	2.06 (0.39-10.88)	0.39
MPSL投与量(2週)	1.001 (1.000-1.002)	0.04
Delayed Graft Function	5.86 (1.32-26.00)	0.02

#### 4. 考察

腎移植術後、IONの発生率は、徐々に減少傾向にある(表6)<sup>7-12)</sup>。しかし、2000年以後、腎移植後IONのMRIスクリーニングを行った報告は少ない。

免疫抑制剤の進歩により、徐々に腎移植の成績は改善している。2002年より抗CD25モノクローナル抗体が導入され、免疫抑制療法は劇的に変化している。従来の免疫抑制剤と併用使用されるようになり、DGFや急性拒絶反応の減少を認め、カルシニューリンインヒビターの使用量の減少や、ステロイド投与量の減量が可能になった<sup>6,13,14)</sup>。当施設でもDGFや急性拒絶反応は減少し、術後短期成績の有意な改善を認めた。ION発生も認めなかった。本研究では、症例数が少ないため有意差を認めなかったが、2003年以降ION発生は認めていない。抗CD25モノクローナル抗体導入後の腎移植患者のION発生については渉猟しうる範囲では報告がないため、他の報告との検証ができないが、抗CD25モノクローナル抗体導入後に腎移植患者のION発生がさらに減少する可能性が示唆される結果であった。

ION発生の危険因子をすべてのMRIスクリーニングした症例を対象に今回再度検証したが、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症例と2週までのMPSL投与量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<sup>15,16)</sup>。エンドセリンが分泌され血管収縮を起こしやすくなるとも報告されている<sup>16)</sup>。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。

表 6:腎移植後 ION 発生の MRI スクリーニング研究

著者	調査期間	移植患者(例)	ION 発生率 (%)
Kospecky	1986-1989	104	13.5
Kubo	1988-1992	51	25.5
Fink	1992-1993	43	9.3
Fujioka	1996-1999	57	21
Marston	1997-2000	26	15.4
Lopez-Ben	1999-2001	48	4.2
本研究	2003-2011	87	0

## 5. 結論

当院における 2003 年以後、ION の発生率は 0%であった。抗 CD25 モノクローナル抗体の導入により免疫抑制療法は劇的に変化し、移植腎のコントロールも良好である。腎移植後 ION の発生率は減少する可能性がある。

## 6. 研究発表

### 1.論文発表

なし。

### 2.学会発表

なし。

## 7. 知的所有権の取得状況

### 1.特許の取得

なし。

### 2.実用新案登録

なし。

### 3.その他

なし。

## 8. 参考文献

- 1) Landmann J, Renner N, Gächter A, Thiel G, Harder F. Cyclosporin A and osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am.* 1987; 69: 1226-8.
- 2) Lausten GS, Jensen JS, Olgaard K. Necrosis of the femoral head after renal transplantation. *Acta Orthop Scand.* 1988; 59: 650-4.
- 3) Sakai T, Sugano N, Kokado Y, Takahara S, Ohzono K, Yoshikawa H. Tacrolimus may be associated with lower osteonecrosis rates after renal transplantation. *Clin Orthop Relat Res.* 2003; 415: 163-70.
- 4) Abbott KC, Koff J, Bohlen EM, Oglesby RJ, Agodoa LY, Lentine KL, Schnitzler MA. Maintenance immunosuppression use and the associated risk of avascular necrosis after kidney transplantation in the United States. *Transplantation.* 2005; 79: 330-6.
- 5) Takao M, Sakai T, Nishii T, Yoshikawa H, Takahara S, Sugano N. Incidence and predictors of osteonecrosis among cyclosporin- or tacrolimus-treated renal allograft recipients. *Rheumatol Int.* 2011; 31: 165-70.
- 6) Libório AB, Mendoza TR, Esmeraldo RM, Oliveira ML, Paes FJ, Silva Junior GB, Daher EF. Induction antibody therapy in renal transplantation using early steroid withdrawal: long-term results comparing anti-IL2 receptor and anti-thymocyte globulin. *Int Immunopharmacol.* 2011; 11: 1832-6.
- 7) 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.
- 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.
- 9) Fink B, Degenhardt S, Paselk C, Schneider T, Modder U, Ruther W. Early detection of avascular necrosis of the femoral head following renal transplantation. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1997; 116: 151-6.
- 10) Fujioka M, Kubo T, Nakamura F, Shibatani M, Ueshima K, Hamaguchi H, Inoue S, Sugano N, Sakai T, Torii Y, Hasegawa Y, Hirasawa Y. Initial changes of non-traumatic osteonecrosis of femoral head in fat suppression images: bone marrow edema was not found before the appearance of band patterns. *Magn Reson Imaging.* 2001; 19: 985-91.
- 11) Marston SB, Gillingham K, Bailey RF, Cheng EY. Osteonecrosis of the femoral head after solid organ transplantation: a prospective study. *J Bone Joint Surg Am.* 2002; 84: 2145-51.

- 12) 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.
- 13) Ponticelli C, Yussim A, Cambi V, Legendre C, Rizzo G, Salvadori M, Kahn D, Kashi H, Salmela K, Fricke L, Heemann U, Garcia-Martinez J, Lechler R, Prestele H, Girault D; Simulect Phase IV Study Group. A randomized, double-blind trial of basiliximab immunoprophylaxis plus triple therapy in kidney transplant recipients. *Transplantation.* 2001; 72: 1261-7.
- 14) Boletis JN, Theodoropoulou H, Hiras T, Stamatiadis D, Darema M, Psimenou E, Stathakis C, Kostakis A. Monoclonal antibody basiliximab with low cyclosporine dose as initial immunosuppression. *Transplant Proc.* 2001; 33: 3184-6
- 15) Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation *Lancet.* 2004;364:1814-27.
- 16) 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.

# 全身性エリテマトーデス患者に合併する大腿骨頭壊死症の検討

## —直近のループス腎炎治療例における検討—

竹内 勤（慶應義塾大学医学部 リウマチ内科）  
瀬田範之（慶應義塾大学医学部 リウマチ内科）  
花岡洋成（慶應義塾大学医学部 リウマチ内科）

当院において直近でステロイド大量投与を受けたループス腎炎を対象として、予後不良病型に積極的に免疫抑制薬を投与する現在の治療下での大腿骨頭壊死発生の現状を解析し、35 例中 2 例（5.7%）に認められた。

### 1. 研究目的

全身性エリテマトーデス（SLE）に合併する大腿骨頭壊死症は、患者 QOL を著しく低下させる合併症で、その病態に関して多くの検討がなされ、高用量の副腎皮質ステロイド治療、高脂血症、過凝固状態、抗リン脂質抗体など、多岐にわたる要因の関与が明らかにされている。特に、先の研究班で行った多施設共同試験では、高脂血症改善を期待してスタチンによる大腿骨頭壊死症予防効果が検証された。残念ながら予防投与の有無にかかわらず大腿骨頭壊死症の発生は 25～26% であった。依然として主要な病態が不明であり、特に SLE に高頻度に出現する機序に関しては依然として明らかとなっていない。そこで、当院において直近でステロイド大量投与を受けたループス腎炎を対象として、予後不良病型に積極的に免疫抑制薬を投与する現在の治療下での大腿骨頭壊死発生の現状を解析する。

### 2. 研究方法

2008 年 4 月から当院で腎生検を施行し、治療後 1 年間経過を追跡可能なループス腎炎患者 30 例を対象とし、その中でステロイド大量投与を受けた症例に着目して解析した。治療前、治療後 6 か月、1 年、2 年、3 年時点での臨床情報と、治療前の腎組織学所見との関連を比較検討した。腎組織学的所見は ISN/RPS2003 年分類に記載される活動性、慢性病変の各所見の割合、および NIH

activity (AI)/ chronicity index (CI) に規定される各所見の割合に基づき評価した。大腿骨頭壊死は、ステロイド大量投与治療後約 6 ヶ月後の MRI で評価した。

### 3. 研究結果

1) 患者背景：この期間中のループス腎炎症例で腎生検が施行された症例は 37 例で、その内訳は II 型 2 例、III 型 12 例、IV 型 15 例、V 型 8 例の 37 例であった。1 年以上治療経過が終えた 30 例を表 1 に示す。III 型と比較して IV 型の方が高齢（ $42.5 \pm 11.9$  vs  $46.7 \pm 14.5$  歳）で、eGFR 値が低く（ $69.8 \pm 21.5$  vs  $60.8 \pm 20.1$  ml/min）、尿タンパク量が多く（ $1.37 \pm 1.34$  vs  $3.55 \pm 2.27$  g/日）、沈渣異常の割合が高い傾向にあった（50 vs 69%）。  
2) ループス腎炎の治療：表 1 に示す様に、寛解導入療法として IVCY 療法が III 型の 10%、IV 型の 69.2% で選択され、II 型を除く全例の 28 例でプレドニゾン 0.8~1.2mg/kg 相当のステロイド大量療法が施行されていた。その結果、6 カ月以内の寛解導入率は III 型で 30%、IV 型で 78% と、良好な治療効果を示した。IV 型を中心に、ステロイドに加えて強力な免疫抑制治療が併用されており、それに伴ってステロイド減量もより早く、減量率も高かった。組織学的には III 型と比較して IV 型の方が AI、CI とともに高かった（ $2.3 \pm 1.65$  vs  $6.5 \pm 2.4$ ,  $1.7 \pm 1.4$  vs  $2.2 \pm 1.7$ ）。IV 型において管内細胞増多と内皮下沈着物の共存率は 84.6% で

あり、IV-S型とIV-G型で差はなく従来の報告と異なった。硝子円柱を除く円柱の存在はIV型の診断に特異性が高く(感度52%、特異度100%)、組織学的には内皮下沈着物の陽性範囲と相関関係にあった(p=0.01)。

3)大腿骨頭壊死:ステロイド大量投与の対象となった35例で、大腿骨頭壊死がMRIで確認され、診断されたものは2例であった。この35例で、今回の寛解導入治療が、初回治療であったものは8例で、その内訳は、III型が3例、IV-G型が2例、IV-S+V型が1例、V型が2例であり、この中には、大腿骨頭壊死例は認めなかった。一方、再寛解導入例の27例の内訳は、III型9例、IV-Gが4例、IG+V型が1例、IV-S型が2例、IV-S+V型が5例、V型が5例、不明1例であった。大腿骨頭壊死2例が含まれており、1例は37歳男性でIV-G型、もう一例は37歳女性V型で、寛解導入までにそれぞれ12ヶ月を要した。IV型の平均22.6ヶ月、V型8.4ヶ月と比べ、特段の延長は認めなかった。

#### 4. 考察/結論

大腿骨頭壊死は、直近のループス腎炎ステロイド大量投与群の35例中2例に認められ、その頻度は5.7%と、昨年報告した調査対象期間が古いデータの31.2%と比べると、頻度が低かった。昨年度の報告は、ループス腎炎以外の病態も含まれており、種々の背景が異なるという限界がある。一方、ステロイド投与総量、寛解に至るまでの期間、併用薬などの要因が異なっていた可能性があり、背景を調整した適切なヒストリカルコホートを設置して、最近のループス腎炎ステロイド大量治療例における大腿骨頭壊死発生を調査解析する必要がある。

#### 5. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Suzuki K, Kameda H, Amano K, Nagasawa H, Takeii H, Nishi E, Okuyama A, Tsuzaka K, and Takeuchi T. Single center prospective study of tacrolimus efficacy and safety in the treatment of various manifestations in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*

腎生検を施行し、治療後1年間追跡し得たループス腎炎30例のまとめ

class	II	III	IV	V
人数(人)	2	10	13	5
年齢(歳)	33.0±15.5	42.5±11.9	46.7±14.5	39.6±2.41
観察期間(月)	12.0±0.0	20.0±10.7	22.6±9.84	24.0±8.48
TP (g/dl)	7.3±0.9	7.1±1.0	6.0±0.9	6.7±0.9
Alb (g/dl)	3.9±0.4	3.2±0.4	2.8±0.5	3.7±0.3
Cr (mg/dl)	0.5±0.1	0.8±0.2	0.9±0.3	0.7±0.1
eGFR (ml/min) 24hr U-TP (g/day)	102±12.9	69.8±21.5	60.8±20.1	74.7±7.17
dsDNA (IU/ml)	110.5±146.3	146.9±153.2	151.7±137.1	98.6±170.3
CH50 (U/ml)	36.7±3.53	27.8±13.9	22.5±16.9	29.1±15.4
PSL単独(%)	100	10	0	0
IVCY (%)	0	20	69.2	20
MMF (%)	0	0	15.4	0
FK506 (%)	0	50	15.4	80
CyA (%)	0	20	0	0

*Int*, 31:757-63, 2011.

2. Suzuki K, Setoyama Y, Yoshimoto K, Tsuzaka K, Abe T, and Takeuchi T. Decreased mRNA expression of two Foxp3 isoforms in peripheral blood mononuclear cells from patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Int J Immunopathol and Pharmacology*, 24:7-14, 2011.

2. 学会発表  
特になし

#### 6. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

#### 7. 参考文献

なし

# 新規 MR 転写共役因子複合体によるエピゲノム修飾

加藤茂明、横田健一、井上和樹、今井祐記  
(東京大学分子細胞生物学研究所)

特発性大腿骨頭壊死症 (ION)、中でもステロイド性 ION の原因としてグルココルチコイドによる MR 活性化と血管内皮機能障害の関与が想定されている。その分子基盤を明らかにするため、我々は新たな MR 転写共役因子を探し、その結果新規 MR 転写共役因子 p150 を同定した。p150 は MR とリガンド依存的に結合し、MR 転写活性を負に制御することが明らかとなった。さらに、その転写制御は、p150 がクロマチンリモデリング複合体 NuRD と MR のアダプターとして機能することにより、転写活性を抑制することであることを見出した。これらの分子メカニズムが大腿骨頭壊死症の病態生理に関与している可能性が考えられる。

## 1. 研究目的

特発性大腿骨頭壊死症 (ION) の中でも、ステロイド投与により発症するステロイド性 ION の発症病態は不明であり、ステロイドと ION 発症との関連の解明は、この難病治療への突破口になる可能性が考えられる。血管内皮細胞においてグルココルチコイドは  $11\beta$  HSD2 による代謝を免れ、グルココルチコイド受容体 (GR: Glucocorticoid Receptor) のみならずミネラルコルチコイド受容体 (MR: Mineralcorticoid Receptor) にも等親和性に結合し、血管内皮障害を惹起することで大腿骨頭壊死の病態生理に関与していると考えられるが、その分子メカニズムはほとんど明らかにされていない。そこで、MR による転写制御メカニズムを解明することにより、ION 発症病態を明らかにする糸口を探索すること目的とし、研究を遂行する。

## 2. 研究方法

生化学的手法を用いて、MR 結合因子の探索を行い、LC-MS/MS を用いた候補蛋白の同定と機能解析を行い、同定し得た因子を含む転写共役因子複合体の構成因子の同定ならびに機能解析を行う。

## 3. 研究結果

### 1) 取得因子 p150 の機能解析

FLAG-MR 安定発現 HEK293F 細胞より核抽出液を取得し、FLAG-M2 agarose レジンによるアフィニティ精製を行い、MR 結合因子を LC-MS/MS により探索をお

こなった結果、同定し得た p150 が、リガンド依存的に MR と結合すること、また、ラット腎組織において MR と p150 が細胞核内で共局在することが判明した。さらに、shRNA にて p150 遺伝子発現抑制を行ったところ、MR のリガンド依存的な標的遺伝子である SGK および ENaC  $\alpha$  の発現誘導が増強された。

### 2) p150 複合体の同定

FLAG-p150 安定発現株を樹立し、大量培養の後、FLAG-M2 agarose レジンを用いて p150 結合因子の精製を行い、SDS-PAGE に展開し銀染色を行い、得られたバンドを切り出し LC-MS/MS を用いて、Mi-2、MTA1、HDAC2、RbAp48 など主要な NuRD 複合体構成因子を同定することに成功した。さらに、グリセロール密度勾配遠心法により、p150 複合体をサイズ分画したところ p150 複合体が約 1メガ Da の複合体を形成することを見出した。

### 3) p150 の機能解析

HEK293F 細胞に p150 を過剰発現させ、アルドステロン処理を行い、MR と NuRD 複合体構成因子 Mi2、MTA1 の共免疫沈降を行ったところ、内在性の MR と Mi2 および MTA1 の相互作用の増強が確認された。また、MR を用いたルシフェラーゼアッセイにおいて、shRNA により Mi2 遺伝子発現抑制することにより、p150 による MR 転写抑制が一部解除されることを見出した。



#### 4. 考察

今回同定し得た p150 複合体は、クロマチンリモデリング複合体 NuRD の主要構成因子を含むことが明らかとなり、MRの核における結合因子 p150 がクロマチンの構造調節を介したエピゲノム制御により、MR の転写抑制を調節している可能性が示唆される結果を得た。今後は血管内皮細胞において同様な分子メカニズムが存在するか否かの探索をおこない、血管内皮障害を惹起するメカニズムおよび ION 発症メカニズムにおける、MR の役割をより明らかにしたいと思っている。

#### 5. 結論

MR の転写抑制を制御する MR 結合因子 p150 が、MR と NuRD 複合体とをつなぐアダプター因子であることを見出した。MR/p150/NuRD 複合体は、リガンド依存的にクロマチン構造調節を担い、MR 転写活性を抑制することで、大腿骨頭壊死の病態生理に関与している可能性がある。

#### 6. 研究発表

##### 1. 論文発表(○特に本研究と関係するもの)

- 1) Fujiki, R., Hashiba, W., Sekine, H., Yokoyama, A., Chikanishi, T., Ito, S., Imai, Y., Kim, J., He, H.H., Igarashi, K., Kanno, J., Ohtake, F., Kitagawa, H., Roeder, R.G., Brown, M., Kato, S.: GlcNAcylation of histone H2B facilitates its monoubiquitination. *Nature* 2011 (in press).
- 2) Yokoyama, A., Katsura, S., Ito, R., Hashiba, W., Sekine, H., Fujiki, R., Kato, S.: Multiple post-translational modifications in hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$ . *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011; 410:749-753.
- 3) Ohtake, F., Fujii-Kuriyama, Y., Kawajiri, K., Kato, S.: Cross-talk of dioxin and estrogen receptor signals through the ubiquitin system. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2011; 127:102-107.
- 4) Kato, S., Yokoyama, A., Fujiki, R.: Nuclear receptor coregulators merge transcriptional coregulation with epigenetic regulation. *Trends Biochem. Sci.* 2011; 36:272-281.
- 5) Imai, Y., Kouzmenko, A., Kato, S.: Targeting Fas/FasL signaling, a new strategy for maintaining bone health. *Expert Opin. Ther. Targets* 2011; 15:1143-1145.

- 6) Kitagawa, H., Fujiki, R., Yoshimura, K., Oya, H., Kato, S.: Williams syndrome is an epigenome-regulator disease. *Endocr. J.* 2011; 58:77-85.
- 7) Takahashi, S., Watanabe, T., Okada, M., Inoue, K., Ueda, T., Takada, I., Watabe, T., Yamamoto, Y., Fukuda, T., Nakamura, T., Akimoto, C., Fujimura, T., Hoshino, M., Imai, Y., Metzger, D., Miyazono, K., Minami, Y., Chambon, C., Kitamura, T., Matsumoto, T., Kato, S.: Noncanonical Wnt signaling mediates androgen-dependent tumor growth in a mouse model of prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011; 108:4938-4943.
- 8) Baba, A., Ohtake, F., Okuno, Y., Yokota, K., Okada, M., Imai, Y., Ni, M., Meyer, C.A., Igarashi, K., Kanno, J., Brown, M., Kato, S.: PKA-dependent regulation of the histone lysine demethylase complex PHF2-ARID5B. *Nat. Cell Biol.* 2011; 13:668-675.
- 9) Ishiguro, K., Kim, J., Fujiyama-Nakamura, S., Kato, S., Watanabe, Y.: A new meiosis-specific cohesin complex implicated in the cohesin code for homologous pairing. *EMBO Rep.* 2011; 12:267-275.
- 10) Murashima, A., Miyagawa, S., Ogino, Y., Nishida-Fukuda, H., Araki, K., Matsumoto, T., Kaneko, T., Yoshinaga, K., Yamamura, K., Kurita, T., Kato, S., Moon, A. M., Yamada, G.: Essential roles of androgen signaling in Wolffian duct stabilization and epididymal cell differentiation. *Endocrinology* 2011; 152:1640-1651.
- 11) Okamoto, M., Murai, J., Imai, Y., Ikegami, D., Kamiya, N., Kato, S., Mishina, Y., Yoshikawa, H., Tsumaki, N.: Conditional deletion of Bmpr1a in differentiated osteoclasts increases osteoblastic bone formation, increasing volume of remodeling bone in mice. *J. Bone Miner. Res.* 2011; 26:2511-2522.

##### 2. 学会発表

- 1) Yokota, K., Ohtake, F., Shibata, H., Ito, H., Kato, S.: Functional analysis of a novel MR co-regulator p150. The 5<sup>th</sup> International Workshop on Cell

Regulations in Division and Arrest in Okinawa.  
沖縄、2011.10.24.

**7. 知的所有権の取得状況**

1. 特許の取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

**8. 参考文献**

なし

# 酸化ストレス抑制作用を介したグルココルチコイド誘発性血管内皮細胞障害治療

栗飯原賢一、吉田守美子、松本俊夫（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 生体情報内科学）  
赤池雅史（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 医療教育学）

我々はこれまでに、グルココルチコイド過剰による血管内皮細胞でのグルココルチコイド受容体(GR)ならびにミネラルコルチコイド受容体(MR)の病的活性化が、酸化ストレスの亢進と内皮型一酸化窒素合成酵素(eNOS)の発現および活性化低下を生じ、血管内皮機能障害を来すことで、大腿骨頭壊死症を発症するという病態仮説を提唱してきた。HMGCoA 還元酵素阻害薬であるピタバスタチンは、血管内皮細胞において GR 活性化による酸化ストレス産生を抑制し、eNOS の発現および活性化の低下を回復させることを報告した。さらに我々は、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞培養系を用いた検討により、メチルプレドニゾロンによる GR/MR 転写活性の亢進、NADPH oxidase の活性化を介した superoxide 産生の増加、ならびに eNOS の発現と活性化低下は、選択的 MR 阻害薬であるスピロラクトンやエプレレノンにより抑制されることを見出した。また、不飽和脂肪酸である EPA はスタチンとの併用で冠動脈疾患抑制効果を増強することが知られており、これらの MR 阻害薬とともに、酸化ストレスの抑制による血管内皮機能の改善を介して、大腿骨頭壊死症の新たな予防・治療法となる可能性がある。

## 1. 研究目的

我々は選択的グルココルチコイド(GC)受容体(GR)合成リガンドであるデキサメザゾンを用いた検討により、血管内皮細胞における GR の活性化は活性酸素の産生増加と内皮型一酸化窒素合成酵素(eNOS)の発現・活性化減少を惹起し<sup>1)2)</sup>、これらはピタバスタチンにより抑制されることを報告してきた<sup>3)</sup>。

一方、内因性 GC であるコルチゾールや合成 GC であるメチルプレドニゾロン(mPSL)は GR のみならず、ミネラルコルチコイド受容体(MR)に結合し、その活性化作用を有する。血管内皮細胞では 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase 2 (11 $\beta$ -HSD2)の発現がほとんど無いため<sup>4)</sup>、コルチゾールや mPSL は不活性化されず、血管内皮細胞の MR を活性化する可能性がある。そこで我々は、非選択的MR阻害薬であるスピロラクトンや、選択的MR阻害薬であるエプレレノンが、グルココルチコイド誘発性血管内皮細胞障害を抑制するか否かについて検討し、実際にこれらMR阻害薬が、GC過剰状態において血管内皮細胞での活性酸素産生を抑制し、eNOS発現低下やリン酸化障害を回復させることを、本研究班会議において報告してきた(図1)。

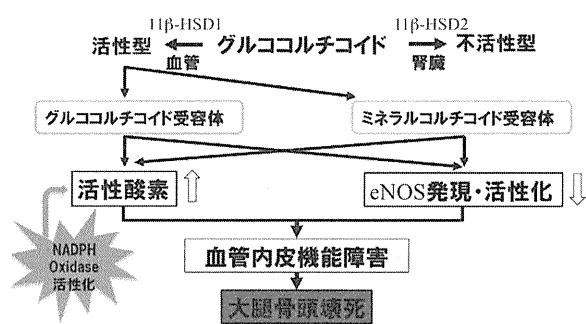


図1. GRとMRの活性化を介したGC過剰状態による大腿骨頭壊死の発症機序仮説

今回我々はピタバスタチンのGC過剰による酸化ストレス産生抑制効果に鑑み、ピタバスタチンによるNADPH oxidaseの鍵コンポーネントであるRac-1の活性抑制効果の検証に加え、心血管イベント抑制作用のエビデンスを有する $\omega$ 3系不飽和脂肪酸であるエイコサペンタエン酸(EPA)の酸化ストレスによる血管内皮細胞障害に対する治療薬としての可能性の探索を、研究目的とした。

## 2. 研究方法

I. GC 過剰の血管内皮細胞における Rac-1 の活性化とピタバスタチンの効果に関する検討。

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC, 三光純薬) を HC 非添加のプレートキット EGM-2 で培養した。

HUVEC にピタバスタチン(NK104)  $10^{-5}$  M の添加群および非添加群の 2 群作成し、更にデキサメサゾン(SIGMA D4902)  $10^{-5}$  M の添加群、非添加群の 2 群を組み合わせ、合計 4 群のプレートを作成した。ピタバスタチンの添加はデキサメサゾン添加に先行して 16 時間行ない、その後デキサメサゾン添加を行なった。細胞の回収はデキサメサゾン添加 2 時間後に行なった。

回収後の細胞の蛋白抽出後に、pull down assay によって Rac-1 活性化について評価した。

II. エイコサペンタエン酸(EPA)による酸化ストレス抑制作用と心血管臓器保護効果

8週齢の C57BL/6J マウスを用い、EPA を除した餌と 5% の EPA-rich な餌の 2 群に分けて 1 週間給餌した後に、強力な酸化ストレスを生じさせるアンジオテンシン II(Ang II)を浸透圧ミニポンプにて(2.0mg/kg/day)、2 週間投与行ない、Ang II 投与終了後にマウスを sacrifice して、採血および胸腹部大動脈を採取した。

血液検体は血糖や一般脂質および脂肪酸分画の評価の他、酸化還元能を d-ROM, BAP テストにて測定評価した。

大動脈切片は病理組織学的検討に加え、一部は RT-PCR にて NADPH oxidase component mRNA の発現量検討に加え、pull down assay による Rac-1 活性化について評価した。

(倫理面への配慮)

本研究はヘルシンキ宣言、徳島大学遺伝子組み換え実験安全管理委員会規定ならびに徳島大学倫理委員会規定に基づき施行した。

## 3. 研究結果

I. GC 過剰の血管内皮細胞における Rac-1 の活性化とピタバスタチンの効果に関する検討。

HUVEC にデキサメサゾンを添加した場合は著明に Rac-1 の活性化が見られた。一方、ピタバスタチンの添加は、デキサメサゾンの添加の有無に関わらず Rac-1 の活性化を抑制したが、デキサメサゾン添加群においては、デキサメサゾン非添加群とほぼ同様のレベルま

で Rac-1 の活性化を抑制していた(図2)。

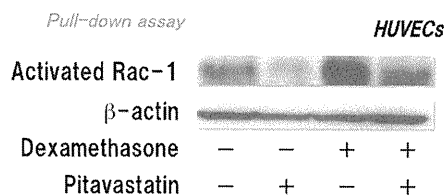


図 2. デキサメサゾンはヒト血管内皮細胞において Rac-1 の活性化を来し、ピタバスタチンはそれを抑制する

II. エイコサペンタエン酸(EPA)による酸化ストレス抑制作用と心血管臓器保護効果

1) EPA による脂質プロファイルの変化

EPA 投与後の脂質プロファイルは主に総コレステロール、中性脂肪(TG)、HDL コレステロールの低下が有意に見られ、逆に EPA/AA 比の有意な上昇が見られた。

2) EPA は Ang II 負荷による大動脈中膜および外膜肥厚を抑制する

マッサントリクローム染色では、Ang II 負荷により大動脈中膜および外膜肥厚が増大したが、EPA はそのいずれも抑制効果を示した(図 3)。

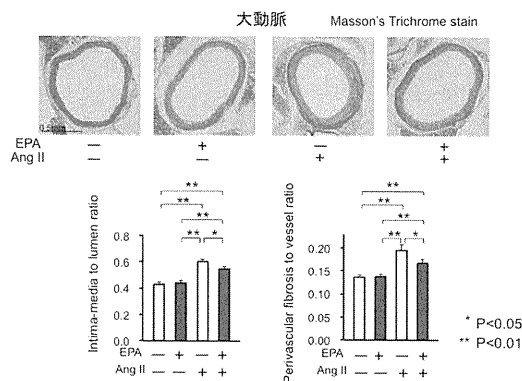


図 3. EPA は Ang II 負荷によるマウス大動脈リモデリングを抑制する

3) EPA は Ang II 負荷による酸化ストレスを抑制する

血中の活性酸素マーカーである d-ROM 値は Ang II 負荷により増大し、EPA 投与により抑制された。一方還元能マーカーである BAP は Ang II 負荷 EPA 投与群でわずかながらにベース状態からの増加があり、BAP/d-ROM 比は Ang II 負荷時に低下するが、EPA は BAP/d-ROM 比の低下を抑制した。