

4) EPA は Ang II による大動脈 NADPH oxidase の活性化を抑制する

Ang II は大動脈組織における NADPH oxidase のコンポーネントである p22phox や p67phox の mRNA を有意に増大させたが、EPA 投与はそれらを有意に抑制した。また Ang II 投与により大動脈の Rac-1 の活性化が生じたが、EPA 投与は Rac-1 の活性化を抑制した (図 4)。

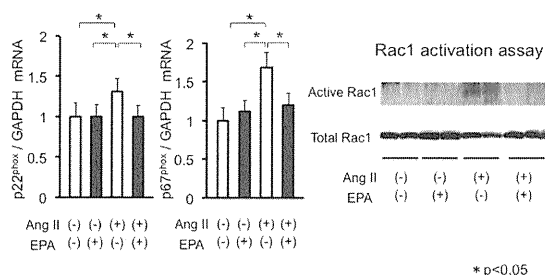


図 4. EPA は Ang II 負荷によるマウス大動脈の NADPH oxidase の活性化を抑制する

4. 考察

EPA は脂質代謝改善薬として、既に臨床応用されており、近年その心血管保護効果についての検証が、臨床研究および基礎研究の両面で精力的に進められており、注目されている。とくに EPA はシバスタチンベースで治療されていた冠動脈疾患患者の心血管イベントを更に 19%低下させたことが、日本人を対象とした大規模臨床試験において証明されている⁵⁾。基盤となるスタチン療法へのこの additive な効果は、EPA の酸化ストレス抑制作用に起因すると想定し、我々はマウスを用いて Ang II 負荷により強い酸化ストレスを生じさせ、EPA の血管臓器保護効果と酸化ストレスの抑制効果を検証した。その結果、仮説通りに EPA は大動脈の Ang II による血管リモデリングを抑制し、各種酸化ストレスマーカーの抑制をもたらす事が明らかとなった。また EPA 投与による酸化ストレス減少メカニズムとして、NADPH oxidase のコンポーネントである p22phox, p67phox の mRNA を抑制し、Rac-1 の活性化抑制に起因することを示した。本研究成果では、我々はデキサメサゾンがヒト血管内皮細胞にて Rac-1 の活性化を来し、活性酸素を増大させることを明らかにしていることから、EPA の Rac-1 を含めた NADPH oxidase のコンポーネントの活性化抑制する作用が GC 過剰による酸化ストレス増大

効果を同様に抑制する可能性があるものと推察する。

これまで我々は本班会議において、合成 GC である mPSL による GR/MR 転写活性は、選択的 MR 阻害薬であるエプレレノンにより有意に抑制されることや、mPSL による血管内皮細胞での活性酸素産生増加や eNOS 発現とリン酸化の抑制も、エプレレノンにより抑制されることを示してきた。これらの結果は、mPSL は血管内皮細胞において MR 活性化により酸化ストレス亢進や eNOS 発現・活性化の抑制をきたすこと、エプレレノンはその作用を抑制することを示唆するものである。一方、GR は血管内皮細胞の生存に必須であるため、臨床的には GR 阻害薬を使用することが困難であるが、我々はすでにピタバスタチンが、GR 活性化による酸化ストレス亢進や eNOS 発現・活性化低下を抑制することを見出している³⁾。エプレレノン⁶⁾とピタバスタチン、更に EPA は、すでに臨床で広く用いられている薬剤であり、これら 3 剤の併用は GR ならびに MR 活性化による活性酸素増大を主因とする血管内皮細胞機能低下を効果的に抑制し、大腿骨頭壊死症の予防・治療薬として有効である可能性がある (図 5)。

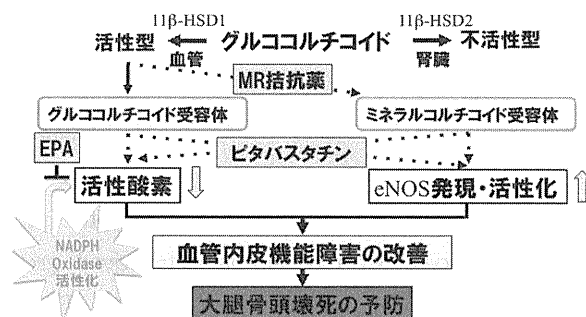


図 5. MR 拮抗薬、ピタバスタチン、EPA の 3 剤カクテル療法による GC 過剰誘発性大腿骨頭壊死予防法の戦略

5. 結論

グルココルチコイド過剰は GR ならびに MR 活性化による酸化ストレス亢進と eNOS 発現および活性化抑制を介して血管内皮細胞障害を惹起する。EPA は、NADPH oxidase のコンポーネントの活性化を阻害することで強力な酸化ストレス抑制作用を発揮し、選択的 MR 阻害薬であるエプレレノンは GC 誘発性血管内皮細胞障害を改善する。また本班会議で、我々が報告してきた様にピタバスタチンは酸化ストレス抑制および eNOS の発現・活性化の増強作用を有する事から、これら 3 剤によるカクテル療法はステロイド性大腿骨頭壊死症の新たな

な予防法として今後注目すべきであると考え。

6. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Aihara K, Mogi M, Shibata R, Bishop-Bailey D, Ma XL. Interactions between CKD and MetS and the Development of CVD. *Cardiol Res Pract.* 2011;2011:878065.
- 2) Yagi S, Akaike M, Aihara K, Iwase T, Ishikawa K, Yoshida S, et al. Effect of low-dose (1 mg/day) pitavastatin on left ventricular diastolic function and albuminuria in patients with hyperlipidemia. *Am J Cardiol.* 2011;107:1644-9.
- 3) Aihara K, Ikeda Y, Yagi S, Akaike M, Matsumoto T. Transforming Growth Factor- β 1 as a Common Target Molecule for Development of Cardiovascular Diseases, Renal Insufficiency and Metabolic Syndrome. *Cardiol Res Pract.* ;2011:175381.
- 4) Ise T, Aihara K, Sumitomo-Ueda Y, Yoshida S, Ikeda Y, Yagi S et al. Plasma heparin cofactor II activity is inversely associated with left atrial volume and diastolic dysfunction in humans with cardiovascular risk factors. *Hypertens Res.* 2011;34:225-31.
- 5) Hashizume S, Akaike M, Azuma H, Ishikawa K, Yoshida S, Sumitomo-Ueda Y et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor α in megakaryocytes reduces platelet-derived growth factor-BB in platelets. *J Atheroscler Thromb.* 2011;18:138-47.
- 6) Yagi S, Akaike M, Aihara K, Iwase T, Yoshida S, Sumitomo-Ueda Y et al. High plasma aldosterone concentration is a novel risk factor of cognitive impairment in patients with hypertension. *Hypertens Res.* 2011;34:74-8.

2. 学会発表

- 1) 吉田守美子、栗飯原賢一、上田由佳、池田康将、岩瀬俊、赤池雅史 他:エイコサペントエン酸は酸化ストレス抑制を介してアンジオテンシン II 刺激による心血管リモデリングを抑制する:第84回日本内分泌学会学術総会. 神戸. 2011.4.21-23.
- 2) 赤池雅史、栗飯原賢一、池田康将、八木秀介、石川カズ江、吉田守美子 他:グルココルチコイド誘

発性血管内皮細胞障害に対するアルドステロン受容体拮抗薬の効果:第84回日本内分泌学会学術総会. 神戸. 2011.4.21-23.

- 3) 原知也、栗飯原賢一、吉田守美子、上田由佳、池田康将、岩瀬俊 他:血清エイコサペントエン酸/アラキドン酸比は心血管リスクを有する高齢者のCKDリスクマーカーである:第84回日本内分泌学会学術総会. 神戸. 2011.4.21-23.
- 4) Sumiko Yoshida, Ken-ichi Aihara, Takayuki Ise, Yuka Ueda, Yasumasa Ikeda, Takashi Iwase et al. Eicosapentaenoic acid protects against angiotensin II-induced cardiovascular remodeling via attenuation of oxidative stress. 第75回日本循環器学会総会・学術集会. 横浜.
- 5) 栗飯原賢一、近藤絵里、倉橋清衛、近藤剛史、木内美瑞穂 他:慢性腎臓病におけるエイコサペントエン酸の意義に関する臨床的検討:第11回日本内分泌学会四国支部学術集会. 高知. 2011.9.10
- 6) 吉田守美子、栗飯原賢一、上田由佳、池田康将、赤池雅史 他:エイコサペントエン酸の酸化ストレス抑制を介したアンジオテンシンII刺激による心血管リモデリング抑制効果の検討:第34回日本高血圧学会総会. 宇都宮. 2011.10.20-22

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) Iuchi T, Akaike M, Mitsui T, et al. Glucocorticoid excess induces superoxide production in vascular endothelial cells and elicits vascular endothelial dysfunction. *Circ Res.* 2003;92:81-7
- 2) 赤池雅史, 松本俊夫. ステロイド過剰による NO bioavailability の低下と血管内皮機能障害. *CLINICAL CALCIUM.* 2007;17:864-70
- 3) 赤池雅史, 松本俊夫. 大腿骨頭壊死症の最近の話題「ステロイド投与下におけるスタチンと血管内皮」. *整形・災害外科* 52:957-963, 2009.
- 4) Walker BR. Glucocorticoids and Cardiovascular

Disease. European Journal of Endocrinology. 2007;157: 545–559

- 5) Yokoyama M, Origasa H, Matsuzaki M, Matsuzawa Y, Saito Y, Ishikawa Y. et al. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis. Lancet. 2007;369:1090–8
- 6) Pitt B, Remme W, Zannad F, et al. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. N Engl J Med. 2003;348:1309–21

間葉系幹細胞による骨芽細胞分化、破骨細胞分化抑制を介した大腿骨頭壊死症の 治療応用に関する研究

田中良哉、山岡邦宏、岡田洋右、齋藤和義
(産業医科大学医学部第一内科学)

特発性大腿骨頭壊死症の病態として滑膜の炎症と間葉系幹細胞の異常が報告されている。また、間葉系幹細胞を多く含む骨髓細胞の投与の大腿骨頭壊死症に対する効果が動物モデルで報告される。これまで研究者らは、ヒト骨髓由来間葉系幹細胞を用いて、骨芽細胞、軟骨細胞への分化誘導機構を研究してきた。今年度は、ヒト間葉系幹細胞における骨芽細胞誘導メカニズムを解明し、IL-1 刺激下に於いて、迅速かつ効率的に骨芽細胞へ分化し、wnt5a/ror2を介するシグナル伝達系が関与することが示された。また、コラーゲン誘導関節炎発症ラットにおけるナノファイバーを用いたヒト間葉系幹細胞の投与方法と治療効果を検討し、骨再生誘導法の確立、治療応用を目指した。

1. 研究目的

特発性大腿骨頭壊死症は、大腿骨頭の循環障害による骨梁及び骨髓の阻血性の無菌性壊死で、全身性エリテマトーデス等の膠原病にしばしば併発する。特発性大腿骨頭壊死症の発症機序は未だ不詳であるが壊死に陥った骨頭に対しては、機能の改善は期待できず、「修復」を目指した治療ツールの開発が必須である。我々は、ヒト骨髓由来間葉系幹細胞の増幅系を整備し、臨床応用可能な培養系を確立し、骨頭の『修復』への応用を図るべく検討を開始した。今年度は、ヒト間葉系幹細胞における骨芽細胞誘導メカニズムの解明、及び、コラーゲン誘導関節炎発症ラットにおけるナノファイバーを用いたヒト間葉系幹細胞の投与方法と治療効果を検討し、壊死に陥った骨組織の修復・再生を目指した前臨床的な基盤の確立を目的とした。

2. 研究方法

ヒト間葉系幹細胞は健常人骨髓より作成され、臨床試験に用いられているものを使用した(Osiris 社)。骨芽細胞分化誘導培地に炎症性サイトカインを添加し、RUNX-2、アルカリフォスファターゼ(ALP)活性、石灰化を指標に骨芽細胞分化を評価した。また、ヒト間葉系幹細胞を播種したポリ乳酸ファイバー(ナノファイバー)を24時間培養後、コラーゲン誘導関節炎発症前の関節近

傍に移植し、間葉系幹細胞を直接関節内投与したラットと病理組織標本、軟部 X 線、micro CT を比較検討した

3. 研究結果

- ① ヒト骨髓由来間葉系幹細胞は骨芽細胞分化培地にIL-1 β を添加することで培養4日目にALP陽性、10日目でアザリンレッド陽性石灰化が観察された。IL-1 β の効果は、TNF、IL-6、IL-17より強力であった。IL-1 β を添加後7日目ではRUNX2、Bone sialoprotein、OsteocalcinのmRNAの発現が亢進し、迅速で効率的な骨芽細胞分化が確認された。
- ② IL-1 β で刺激したヒト間葉系幹細胞では、Wnt5aとその受容体Ror2のmRNA発現の亢進が観察され、Wnt5aまたはROR2をsiRNAで発現抑制すると石灰化は阻害されたことから、non-canonical pathwayを介すシグナル伝達が示された。一方、IL-1 β によるcanonical pathwayの活性化は観察されなかった。
- ③ コラーゲン誘導関節炎ラットを用いた検討では、ヒト間葉系幹細胞を直接関節内投与しても無治療群と相違を認めなかったが、ヒト間葉系幹細胞をナノファイバーに播種して関節近傍に移植すると、関節炎スコアの低下、軟部 X 線、microCT、組織学的評価における骨破壊の進展抑制が観察された。

4. 考察

ヒト骨髄由来間葉系幹細胞は、骨芽細胞や軟骨細胞に分化可能な多分化能を持つだけでなく、骨髄や脂肪組織に存在し、in vitro における自己複製能に優れていることから、入手が容易で倫理的問題を伴わず、今後の再生医療における重要なツールとして注目されている。今回、ヒト骨髄由来間葉系幹細胞 C は、IL-1 β などの炎症性サイトカインの存在下において骨芽細胞へ分化可能であり、その機序は Wnt5a/ROR2 発現誘導およびその下流のシグナル経路が関与していると考えられる。即ち、ヒト骨髄由来間葉系幹細胞からの分化誘導には、non-canonical pathway の関与が初めて示された。一方、コラーゲン誘導関節炎ラットにおいては、関節内投与と比較してヒト骨髄由来間葉系幹細胞播腫ポリ乳酸ファイバー（ナノファイバー）による関節炎発症抑制作用と石灰化形成が観察された。これらの結果より、間葉系幹細胞を用いた関節炎治療では、直接の関節内投与より、ナノファイバーを足場として関節近傍に間葉系幹細胞をとどめる事による関節炎発症や関節破壊の抑制の可能性が示唆された。今後、マトリゲルやナノファイバーを用いて間葉系幹細胞からの 3 次元骨再生系を確立し、間葉系幹細胞からの骨修復・再生系を動物モデルへ応用し、壊死になった骨組織の修復・再生を目指した治療ツールとしての展開を検討していく予定である。

5. 結論

ヒト骨髄由来間葉系幹細胞は、IL-1 β 刺激下に於いて、迅速かつ効率的に骨芽細胞へ分化し、wnt5a/ror2 を介するシグナル伝達系が関与することが示された。また、ナノファイバーを用いたヒト間葉系幹細胞の投与方法と治療効果を検討し、生体内における骨再生誘導法の基礎を確立した。今後は、壊死骨の再生の臨床開発を目指す。

6. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanaka Y, Maeshima Y, Yamaoka K. In vitro and in vivo analysis of a Jak inhibitor in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* (in press)
- 2) Takeuchi T, Tanaka Y, Amano K, Hoshi D, Nawata M, Nagasawa H, et al. Clinical, radiographic, and functional effectiveness of tocilizumab for rheumatoid arthritis patients - REACTION

52-week study -. *Rheumatology* (in press)

- 3) Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Tanaka Y, Ito K, et al. Postmarketing Surveillance of Tocilizumab for Rheumatoid Arthritis in Japan - Interim Analysis of 3,881 Patients. *Ann Rheum Dis* (in press)
- 4) Tanaka Y, Harigai M, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Yamamoto K, et al. Golimumab, a human anti-TNF- α monoclonal antibody, injected subcutaneously every 4 weeks in Japanese patients with active rheumatoid arthritis in combination with methotrexate: results of the Phase 2/3, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled GO-FORTH study through 24 weeks. *Ann Rheum Dis* (in press)
- 5) Tak PP, Mease PJ, Genovese MC, Kremer J, Haraoui B, Tanaka Y, Bingham III CO, et al. Efficacy and safety of ocrelizumab in patients with active rheumatoid arthritis with an inadequate response to at least one TNF inhibitor: results from the phase III SCRIPT trial. *Arthritis Rheum* (in press)
- 6) Harigai M, Tanaka Y, Maisawa S; on behalf of the JA21963 study group. Safety and efficacy of various dosages of ocrelizumab in Japanese rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to methotrexate therapy: a placebo-controlled, double-blind, parallel-group study. *J Rheumatol* (in press)
- 7) O Maeshima K, Yamaoka K, Kubo S, Nakano K, Iwata S, Tanaka Y, et al. A JAK inhibitor tofacitinib regulates synovitis through inhibition of IFN- γ and IL-17 production by human CD4⁺ T cells. *Arthritis Rheum* (in press)
- 8) O Oshita K, Yamaoka K, Udagawa N, Fukuyo S, Sonomoto K, Tanaka Y. Human mesenchymal stem cells inhibit osteoclastogenesis through osteoprotegerin production. *Arthritis Rheum* (2011) 63, 1658-1667
- 9) O Nakano K, Yamaoka K, Hanami K, Saito K, Sasaguri Y, Tanaka Y. Dopamine induces IL-6-dependent IL-17 production via D1-like receptor on CD4 naïve T-cells and a D1-like receptor antagonist SCH-23390 inhibits cartilage

destruction in a human rheumatoid arthritis/SCID mouse chimera model. *J Immunol* (2011) 186, 3745-3752

- 10) Kameda H, Kanbe K, Sato E, Ueki Y, Saito K, Tanaka Y, et al. Continuation of Methotrexate (MTX) Resulted in Better Clinical and Radiographic Outcomes than Its Discontinuation upon Commencing Etanercept in Patients with Rheumatoid Arthritis: 52-Week Results from the JESMR Study. *J Rheumatol* (2011) 38, 1585-1592
- 11) Iwata S, Saito K, Tokunaga M, Yamaoka K, Nawata M, Tanaka Y. Phenotypic changes of lymphocytes in patients with systemic lupus erythematosus who are in longterm remission after B cell depletion therapy with rituximab. *J Rheumatol* (2011) 38, 633-641
- 12) Komano Y, Tanaka M, Nanki T, Tanaka Y, Miyasaka N, Harigai M, et al. Incidence and risk factors for serious infection in rheumatoid arthritis patients treated with tumor necrosis factor (TNF) inhibitors; a report from the registry of Japanese Rheumatoid Arthritis Patients for Long-Term Safety (REAL). *J Rheumatol* (2011) 38, 1258-1264
- 13) Tanaka Y, Suzuki M, Nakamura H, Toyoizumi S, Twilich S. Phase 2 study of tofacitinib (CP-690,550) combined with methotrexate in patients with rheumatoid arthritis and inadequate response to methotrexate. *Arthritis Care Res* (2011) 63, 1150-1158

2. 学会発表

- 1) Tanaka Y. In vivo and in vitro analysis of a Jak inhibitor in RA. Advances in Targeted Therapies 2011, Dubrovnik
- 2) Tanaka Y. Is biologic-free remission possible in patients with RA? Advances in Targeted Therapies 2011, Dubrovnik
- 3) Y. Tanaka, S. Hirata, M. Nawata, S. Kubo, K. Saito. Discontinuation of adalimumab after attaining remission in patients with rheumatoid arthritis. The Annual European Congress of Rheumatology 2011, London, England
- 4) Y. Tanaka, M. Harigai, T. Takeuchi, H. Yamanaka, N. Ishiguro, K. Yamamoto, et al. Golimumab, a human anti-TNF- α monoclonal antibody

administered subcutaneously every four weeks as monotherapy in patients with active rheumatoid arthritis despitemethotrexate therapy: 4-week results of clinical and radiographic assessments. The Annual European Congress of Rheumatology 2010, London, England

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

膝骨壊死を伴う割合はステロイド性大腿骨頭壊死症より

アルコール性大腿骨頭壊死症の方が低い

重村知徳、中村順一、岸田俊二、高橋和久
(千葉大学大学院医学研究院 整形外科)

本研究の目的は、膝骨壊死発生の病態における、ステロイドとアルコールの関与を明らかにすることである。対象はステロイド性大腿骨頭壊死 104 例とアルコール性大腿骨頭壊死 60 例であり、両膝の MRI スクリーニングを行った。膝骨壊死はステロイド群 59 例 (57%) とアルコール群 11 例 (18%) に発生した。膝骨壊死を伴う割合はステロイド群がアルコール群よりも有意に高かった ($p < 0.001$)。ステロイド大量投与とアルコール過剰摂取はともに骨壊死発生の危険因子とされるが、ステロイドの方がより骨壊死発生に及ぼす影響が強い可能性が示唆された。

1. 研究目的

ステロイド大量投与とアルコール過剰摂取はともに多発性骨壊死の危険因子とされるが、骨壊死発生に及ぼす影響の程度は不明である。また、大腿骨頭壊死に比べて膝骨壊死の病態は不明な点が多い。本研究の目的は、膝骨壊死の発生における、ステロイドとアルコールの関与を明らかにすることである。

2. 研究方法

1986 年から 2011 年に当科を受診した大腿骨頭壊死患者のうち、(1)ステロイド大量投与歴 (プレドニン換算で一日最大 30mg 以上) もしくはアルコール過剰摂取歴 (エタノール換算で週 400ml 以上) を有し、(2)膝の MRI を施行した患者を選択基準とした。ステロイド大量投与歴とアルコール過剰摂取歴の両方を有する患者、あるいは変形性膝関節症を有する患者は除外した。膝骨壊死の発生頻度をステロイド大量投与群 (ステロイド群) とアルコール過剰摂取群 (アルコール群) で比較した。ステロイド群を一日最大ステロイド投与量により、さらに 2 群 (30-40mg / > 40mg) に分類した。アルコール群についてもアルコール摂取量 (週平均) により、さらに 2 群 (400-1000ml / > 1000ml) に分類した。統計には Fisher's exact probability test を用いて、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

3. 研究結果

大腿骨頭壊死 164 例 (女性 83 例、男性 81 例) を対象とした。年齢は平均 41.7 歳 (14.9-76.5 歳) であった。ステロイド群は 104 例であり、アルコール群は 60 例であった。大腿骨頭壊死に関して、両側例の割合はステロイド群 79% (104 例中 82 例)、アルコール群 48% (60 例中 29 例) であり、ステロイド群の方がアルコール群よりも有意に両側大腿骨頭壊死を伴う割合が高かった ($p < 0.001$)。

膝骨壊死の発生頻度は、ステロイド群 57% (59 例) であり、アルコール群 18% (11 例) であった。膝骨壊死の発生頻度はステロイド群の方がアルコール群よりも有意に高かった ($p < 0.001$)。膝骨壊死に関して、両側例の割合はステロイド群 86% (59 例中 51 例)、アルコール群 36% (11 例中 4 例) であり、ステロイド群の方がアルコール群よりも有意に両側膝骨壊死を伴う割合が高かった ($p = 0.001$)。両側大腿骨頭壊死に膝骨壊死を合併する割合は、ステロイド群が 65% (82 例中 53 例)、アルコール群が 28% (29 例中 8 例) であり、ステロイド群が有意に高かった ($p < 0.001$)。片側大腿骨頭壊死に膝骨壊死を合併する割合は、ステロイド群が 27% (22 例中 6 例)、アルコール群が 10% (31 例中 3 例) であり、ステロイド群が高い傾向を認めた ($p = 0.096$)。

ステロイド群について、一日最大ステロイド投与量が

30-40mg/日の群は17例であり、40mg/日以上群は87例であった。膝骨壊死発生頻度は30-40mg/日の群47% (8例)、40mg/日以上群59% (51例)であり、有意差を認めなかった($p=0.269$)。

アルコール群について、アルコール摂取量が400-1000ml/週の群は43例であり、1000ml/週以上の群は17例であった。膝骨壊死発生頻度は400-1000ml/週の群19% (8例)、1000ml/週以上の群18% (3例)であり、有意差を認めなかった($p=0.623$)。

4. 考察

アルコールはコルチゾール分泌を促すことが知られている¹⁻³⁾。Ricoらは、アルコール性大腿骨頭壊死患者における血中コルチゾール値は狭義の特発性大腿骨頭壊死患者と比較して有意に高かったと述べている⁴⁾。これらの報告はアルコール過剰摂取により、血中コルチゾール濃度が上昇することでステロイド性と同様の機序により骨壊死が惹起される可能性を示唆している。

本研究では、ステロイド性とアルコール性大腿骨頭壊死患者における膝骨壊死の発生頻度を比較し、ステロイド群で膝骨壊死の発生頻度が有意に高いことを示した。また、ステロイド群はアルコール群よりも大腿骨頭壊死・膝骨壊死ともに両側罹患の割合が高かった。これらの結果はステロイドがアルコールより骨壊死発生に及ぼす影響が強い可能性を示唆している。

Matsuoらはアルコール摂取量が8ml/週未満に比べて、400-1000ml/週は9.8倍、1000ml/週以上は17.9倍大腿骨頭壊死発生のリスクが高いことを報告している⁵⁾。本研究では、アルコール摂取量と膝骨壊死発生頻度の間に関連を認めなかった。

5. 結論

膝骨壊死を伴う割合はステロイド群の方がアルコール群よりも有意に高かった。ステロイド大量投与とアルコール過剰摂取はどちらも骨壊死の危険因子であるが、ステロイドの方がより骨壊死発生に及ぼす影響が強い可能性が示唆された。

6. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shigemura T, Nakamura J, Kishida S, Harada Y, Takeshita M, Takazawa M, Takahashi K. The incidence of alcohol-associated osteonecrosis of the knee is lower than the incidence of

steroid-associated osteonecrosis of the knee: an MRI study. *Rheumatology (Oxford)*, *in press*.

2. 学会発表

- 1) 重村知徳、中村順一、原田義忠、清水耕、飯田哲、神川康也、竹下宗徳、鈴木昌彦:アルコール性大腿骨頭壊死患者における膝骨壊死の発生頻度、第55回日本リウマチ学会総会・学術集会.神戸、2011.7.20
- 2) 重村知徳、岸田俊二、中村順一、竹下宗徳、高澤誠、原田義忠、高橋和久:アルコール性大腿骨頭壊死患者における膝骨壊死発生頻度はステロイド性より低い。第38回日本股関節学会学術集会.鹿児島、2011.10.7

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) Czaja C, Kalant H. The effect of acute alcoholic intoxication on adrenal ascorbic acid and cholesterol in the rat. *Can J Biochem Physiol*. 1961; 39: 327-34.
- 2) Ellis FW. Adrenal cortical function in experimental alcoholism in dogs. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1965;120:740-4.
- 3) Smals A, Kloppenborg P. Alcohol-induced pseudo-Cushings syndrome. *Lancet*. 1977;1: 1369.
- 4) Rico H, Gomez-Castresana F, Cabranes JA, Almoguera I, Lopez Duran L, Matute JA. Increased blood cortisol in alcoholic patients with aseptic necrosis of the femoral head. *Calcif Tissue Int*. 1985; 37: 585-7.
- 5) 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.

ステロイド性大腿骨頭壊死の圧潰率、手術率を要する割合は 膝骨壊死より高い

重村知徳、中村順一、岸田俊二、高橋和久
(千葉大学大学院医学研究院 整形外科)

ステロイド性骨壊死の圧潰率と圧潰後に手術を要する割合を大腿骨頭壊死と膝骨壊死について、MRI 前向き研究を行った。大腿骨頭壊死は 191 股、膝骨壊死は 179 膝に発生し、2 年以上経過観察しえた 155 股と 154 膝について調査した。大腿骨頭壊死の 10 年累積圧潰率は膝骨壊死より有意に高かった($p < 0.001$, 38% 対 6%)。大腿骨頭壊死の圧潰後に手術を要する割合は膝骨壊死より有意に高かった($p = 0.024$, 63% 対 29%)。膝骨壊死の圧潰の危険因子として、壊死範囲が 4 部以上に跨ることが挙げられた。

1. 研究目的

骨壊死圧潰後の経過については、大腿骨頭壊死に関する報告は多いが、膝骨壊死に関する報告は非常に少ない。また、圧潰を生じた時点から始められた研究が多く、ステロイド治療開始から、骨壊死の発生及び骨壊死の発症(圧潰)、さらに手術を要するまでの経過を前向きに縦断的に調査した報告はない。本研究の目的は MRI 前向き研究により、ステロイド性骨壊死の圧潰率と圧潰後に手術を要する割合を大腿骨頭壊死と膝骨壊死について明らかにすることである。

2. 研究方法

対象は、1986 年から 2009 年までにステロイド性骨壊死のスクリーニングとして、ステロイド投与後 1 年以内に両股・両膝の MRI を施行した、312 例 (623 股 616 膝) である。大腿骨頭壊死は 191 股、膝骨壊死は 179 膝に発生した。2 年以上経過観察しえた 155 股と 154 膝について検討した。

(1) 骨壊死の圧潰率

大腿骨頭壊死と膝骨壊死の圧潰率を比較した。大腿骨頭壊死については、厚生労働省特発性大腿骨頭壊死症研究班病型分類(厚生省病型分類)¹⁻²⁾により Type A、B、C1、C2 に分類し、圧潰率を比較した。膝骨壊死については、Shimizu の分類³⁾により、膝関節を大腿骨内顆・外顆、大腿骨遠位骨幹端部、脛骨内顆・外顆、脛

骨近位骨幹端部の 6 部位に区分した。壊死範囲が 3 部位以下に留まるものを three 群(T 群)、4 部位以上に跨るものを four 群(F 群)とし、圧潰率を比較した。骨壊死の圧潰の定義は、骨壊死による疼痛症状の出現及び MRI での骨髓浮腫所見(骨頭から頸部にかけてのびまん性の T1 強調像で低信号領域と STIR 像で高信号領域)の出現とした⁴⁾。骨壊死の圧潰は単純 X 線像でも確認した。大腿骨頭壊死と膝骨壊死の圧潰率は、骨壊死の診断から骨壊死の圧潰までをエンドポイントとして Kaplan-Meier 法と Log rank 検定を用いて比較した。 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

(2) 圧潰後に手術を要する割合

大腿骨頭壊死と膝骨壊死それぞれについて、骨壊死の圧潰から手術までをエンドポイントとして Kaplan-Meier 法と Log rank 検定を用いて比較した。

3. 研究結果

(1) 骨壊死の圧潰率

5 年累積圧潰率は、大腿骨頭壊死は 35% であり、膝骨壊死は 3% であった。10 年累積圧潰率は、大腿骨頭壊死は 43% であり、膝骨壊死は 6% であった。大腿骨頭壊死の圧潰率は膝骨壊死より有意に高かった($p = 0.001$)。

大腿骨頭壊死について、厚生省病型分類は Type A 11 股、B 9 股、C1 38 股、C2 97 股であった。それぞれの 5 年累積圧潰率は、Type A 0%、Type B 11%、Type

C1 8%、Type C2 50%であった。10 年累積圧潰率は Type A 0%、B 11%、C1 8%、C2 60%であった。Type C2 の圧潰率は Type A、Type B、Type C1 それぞれに対して有意に高かった(それぞれ $p=0.001$ 、 $p=0.01$ 、 $p=0.001$)。

膝骨壊死について、壊死発生部位の内訳は、大腿骨外顆 79% (122 膝)、大腿骨内顆 64% (98 膝)、大腿骨遠位骨幹端部 47% (72 膝)、脛骨近位骨幹端部 39% (60 膝)、脛骨内顆 15% (23 膝)、脛骨外顆 14% (21 膝)の順に多かった。T 群は 117 膝、F 群は 37 膝であった。5 年累積圧潰率は、T 群 2%であり、F 群 5%であった。10 年累積圧潰率は、T 群 2%、F 群 16%であり、F 群の圧潰率は T 群より有意に高かった($p=0.007$)。

(2) 圧潰後に手術を要する割合

圧潰を生じた大腿骨頭壊死 59 股と膝骨壊死 7 膝について、手術は大腿骨頭壊死 37 股と膝骨壊死 2 膝に要した。手術の術式の内訳は、大腿骨頭壊死に対して、人工股関節置換術(THA)23 股、大腿骨骨切り術 14 股であった。膝骨壊死に対しては、鏡視下デブリードマン 2 膝であり、人工膝関節置換術(TKA)は要しなかった。骨壊死に対する手術はすべて骨壊死の圧潰後に行われており、圧潰前に行われた症例はなかった。5 年累積手術率は、大腿骨頭壊死は 67%であり、膝骨壊死は 14%であった(図 5)。10 年累積手術率は、大腿骨頭壊死は 78%であり、膝骨壊死は 31%であった。大腿骨頭壊死の圧潰後に手術を要する割合は、膝骨壊死に比べて有意に高かった($p=0.024$)。

4. 考察

大腿骨頭壊死は壊死範囲が広いほど圧潰しやすいとされている。Shimizu ら⁵⁾は圧潰前的大腿骨頭壊死 66 股に対して MRI 観察研究を行ない、骨壊死の圧潰率は Grade a 0%、Grade b 14%、Grade c 71%であったと報告している。Shimizu らの Location 分類の Grade a、b は厚労省病型分類の Type A、B に対応しており、Grade c は Type C1 と C2 を合わせたものである。本研究でも同様に壊死範囲の広さが圧潰の予測因子であることが示された。

ステロイド性膝骨壊死の圧潰率に関してはほとんど報告がない。ステロイド性膝骨壊死は、中高年女性の大腿骨内顆に好発する特発性膝骨壊死とは異なる病態である。Takao ら⁶⁾はステロイド性膝骨壊死 30 膝に対して MRI 観察研究を行ない圧潰率は 3% (1 膝)のみであったと報告している。本研究でも同様に大腿骨頭壊死と

比較して膝骨壊死の圧潰率は低いことが示された。また、膝骨壊死の予後予測因子に関する報告はない。本研究により、膝骨壊死も大腿骨頭壊死と同様に、壊死範囲が広いほど圧潰しやすいことが示された。本研究で提唱した F 群と T 群に分類する方法は簡便であり、臨床的に有用である事が示唆された。

本研究では、ステロイド開始からの前向き研究により大腿骨頭壊死の圧潰後に何らかの手術を要する割合は 10 年間で 78%と高率である事が明らかになった。大腿骨頭壊死では、骨頭温存の適応があれば関節温存手術を第一選択にしているため、結果的に手術を要する割合が高くなった可能性があり、実際 38%に関節温存手術が行われていた。一方、全身状態が不良であるために手術を見合わせる場合もある。したがって、骨壊死の圧潰後の経過を解釈することは難しいが、大腿骨頭壊死は膝骨壊死より手術を要する割合が高い可能性が示唆された。一方、膝骨壊死の圧潰後には人工膝関節置換術を要した症例はなく、関節鏡手術により関節温存が可能であることが示唆された。

5. 結論

ステロイド性骨壊死の圧潰率は大腿骨頭壊死が膝骨壊死より有意に高かった。膝骨壊死においても壊死範囲が広い方が圧潰しやすいことが示された。圧潰後に手術を要する割合は大腿骨頭壊死が膝骨壊死より有意に高かった。

6. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 重村知徳、中村順一、岸田俊二、竹下宗徳、高澤誠、飯田哲、中馬敦、老沼和弘、神川康也、白井周史、宮坂健、原田義忠. ステロイド性大腿骨頭壊死と膝骨壊死における骨壊死発生頻度、圧潰頻度、手術頻度の比較. Hip Joint 2011;37: 516-520.

2. 学会発表

- 1) 重村知徳、中村順一、岸田俊二、竹下宗徳、高澤誠、飯田哲、中馬敦、老沼和弘、神川康也、鈴木千穂、宮坂健、原田義忠:ステロイド性大腿骨頭壊死と膝骨壊死における、骨壊死発生頻度、圧潰頻度、手術頻度の比較、第 37 回日本股関節学会学術集会.福岡、2010.10.1
- 2) 重村知徳、中村順一、岸田俊二、原田義忠、老沼

和弘、飯田哲、宮坂健、神川康也、竹下宗徳、高澤誠、高橋和久:ステロイド性骨壊死の発生頻度、圧潰頻度、手術頻度-大腿骨頭壊死と膝骨壊死の比較-、第 84 回日本整形外科学会学術総会.横浜、2011.5.12

- 3) 重村知徳、中村順一、原田義忠、清水耕、飯田哲、神川康也、竹下宗徳、鈴木昌彦:ステロイド性大腿骨頭壊死と膝骨壊死における圧潰頻度と手術を要する割合の比較、第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会.神戸、2011.7.19

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
平成 23 年度大正富山 Award 受賞

8. 参考文献

- 1) Sugano N, Atsumi T, Ohzono K, Kubo T, Hotokebuchi T, Takaoka K. The 2001 revised criteria for diagnosis, classification, and staging of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. J Orthop Sci. 2002;7:601-5.
- 2) Nakamura J, Kishida S, Harada Y, Iida S, Oinuma K, Yamamoto S, Nakajima T, Takazawa M, Shigemura T, Ohtori S, Sato Y, Takahashi K. Inter-observer and intra-observer reliabilities of the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare type classification system for osteonecrosis of the femoral head. Mod Rheumatol. 2011;21:488-94.
- 3) Shimizu K, et al. Steroid-induced multiple bone necrosis: an analysis of 2000 joints in 250 patients. Paper presented at the Annual Meeting of the American Academy of Orthopaedic Surgeons, Anaheim, California, February, 1999.
- 4) Iida S, Harada Y, Shimizu K, Sakamoto M, Ikenoue S, Akita T, Kitahara H, Moriya H. Correlation between bone marrow edema and collapse of the femoral head in steroid-induced osteonecrosis. Am J Roentgenol 2000;174: 735-43.
- 5) Shimizu K, Moriya H, Akita T, Sakamoto M, Suguro T. Prediction of collapse with magnetic resonance

imaging of avascular necrosis of the femoral head. J Bone Joint Surg Am 1994;76: 215-23.

- 6) Takao M, Sugano N, Nishii T, Miki H, Yoshikawa H. Spontaneous regression of steroid-related ON of the knee. Clin Orthop Relat Res. 2006; 452:210-5.

SLE の再燃に伴うステロイド増量により

大腿骨頭壊死の壊死範囲は拡大しうる

中村 順一、重村 知徳、岸田 俊二、高橋 和久
(千葉大学大学院医学研究院 整形外科)

大腿骨頭壊死の壊死範囲の拡大を明らかにすることを目的として、初診時 Stage1・2 の非圧潰例 101 股関節を MRI で 10 年以上前向きに追跡調査した。全例 SLE 患者で経過観察期間 13.6 年、経過観察率 73%であった。7 股(7%)に壊死範囲の拡大を認めたが、これらはすべて SLE 再燃に伴い 30mg/日以上ステロイド増量となった症例であった。従来、壊死範囲は変化しないというのが一般的な見解であったが、長期経過では拡大しうることが示唆された。

1. 研究目的

平成 22 年度第 2 回班会議で大腿骨頭壊死の自然修復について報告した¹⁾。大腿骨頭壊死は、一旦生じたら、その壊死範囲は変化しない、という説が一般に受け入れられてきた²⁻⁴⁾。本研究の目的は、より長期間にわたる MRI 経過観察研究により、ステロイド性大腿骨頭壊死の壊死範囲の頻度を明らかにすること、及び壊死範囲の拡大に関与する因子を明らかにすることである。

2. 研究方法

1986 年から 1997 年までに千葉大学医学部附属病院整形外科を初診した全身性エリテマトーデス(SLE)患者 201 例 402 股を前向きに調査した。MRI で骨壊死スクリーニングを行い⁵⁻⁶⁾、初診時の大腿骨頭壊死の病期⁷⁾が Stage 1 及び 2 の非圧潰例であり、MRI で 10 年以上経過観察しえたものを選択基準とした。対象は大腿骨頭壊死 65 例 101 股であった。SLE 発症年齢は 26 歳、ステロイド最大投与量は 57 mg/日、経過観察期間は 13 年、経過観察率は 73%であった。

検討項目は、壊死範囲の拡大の頻度と拡大に関与する因子である。壊死範囲の変化の定義については、厚労省病型分類^{1, 7)}で 1 段階以上の縮小が継続してみられた場合を改善(自然修復)とし、厚労省病型分類の変化がないものを不変とした。壊死範囲の拡大は厚労省病型分類で 1 段階以上の拡大を認めた場合と定義した。圧潰は疼痛、骨髄浮腫、変形の出現と定義した。壊

死範囲の拡大と圧潰は悪化に分類されるが、さまざまな組み合わせが含まれる。例えば、一旦壊死範囲が縮小したものが拡大する場合、不変から拡大する場合、拡大したものが縮小する場合、縮小から圧潰、不変から圧潰、拡大から圧潰、圧潰から縮小、圧潰から不変、圧潰から拡大、縮小から拡大して圧潰する場合などである。これらすべてを悪化としてまとめた。壊死範囲の拡大に関与する因子は、初診時病型分類、経過中の SLE 再燃の有無、ループス腎炎、CNS ループス、抗リン脂質抗体症候群、骨粗鬆症等の合併症、及び骨粗鬆症薬、ステロイド総投与量、平均投与量、投与期間とした。SLE 再燃の定義は PSL30mg/日以上の増量を要した場合とした。

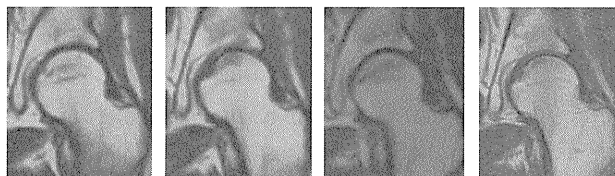
3. 研究結果

大腿骨頭壊死の壊死範囲の拡大の頻度は 7%(101 股中 7 股)であった。骨壊死範囲の拡大は 7 例すべてが SLE 再燃後に認めた。SLE 再燃から壊死拡大までの期間は平均 5.0 ヶ月であった。

経過観察期間において、SLE 再燃なし群は 71 股(70%)であり、SLE 再燃あり群は 30 股(30%)であった。壊死範囲の拡大と SLE 再燃の関係については、SLE 再燃あり群 30 股中 7 股(23%)で壊死拡大を認めたが、SLE 再燃なし群では 0%であり、Fisher's exact probability test で有意差を認めた(p=0.0001)。

症例供覧

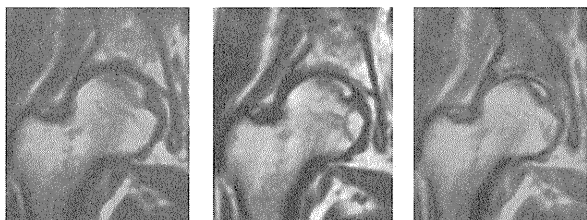
症例 1 21 歳女性。ステロイド投与 3 ヶ月後に type C1 の左大腿骨頭壊死を認めた(図 1A)。3 年後には自然修復して type B となった(図 1B)。6 年後に SLE が再燃し type C1 に壊死範囲が拡大したが(図 1C)、14 年後までに再び自然修復して type B となった(図 1D)。



左股関節 MRI T1 強調冠状断像

図 1A	図 1B	図 1C	図 1D
3 ヶ月後	3 年後	6 年後	14 年後

症例 2 40 歳女性。ステロイド投与 7 年後の時点で type C1 の右大腿骨頭壊死を認めていた(図 2A)。以後荷重部の壊死範囲は縮小傾向にあった。13 年後に SLE が再燃した後に骨頭の内下方に骨壊死の新病変が出現したため、壊死範囲の拡大と判断した(図 2B)。16 年後までに荷重部および骨頭内下方の骨壊死病変は自然修復を認めた(図 2C)。



右股関節 MRI T1 強調冠状断像

図 2A	図 2B	図 2C
7 年後	13 年後	16 年後

4. 考察

これまでの報告では、大腿骨頭壊死は拡大しないとの結果が多く、一般的な認識となってきた。Sugano ら²⁾は SLE 発症から 3 年以内の大腿骨頭壊死 16 股を MRI で 5 年間経過観察し、不変 7 股・骨硬化 3 股・圧潰 6 股であったと報告した。また、Kubo ら³⁾は腎移植後 1 年以内に生じた大腿骨頭壊死 23 股を MRI で 4.3 年間経過観察し、縮小 4 股、不変 7 股、圧潰 12 股であったと述べている。さらに、Yamamoto ら⁴⁾は大腿骨頭壊死 606 骨頭(圧潰 597 股、非圧潰 9 股)の HE 染色の病理組織像から、壊死範囲の拡大は 2 骨頭(0.3%)のみに認めたと報告し、壊死範囲の拡大は極めてまれであることを支

持した。近年、Yamaguchi と Yamamoto⁸⁾はアルコール性大腿骨頭壊死患者に認めた double low-intensity band の MRI 所見を症例報告しているが、病理診断は骨壊死と軟骨下骨折の合併であり骨壊死の拡大ではなかった。

一方、千葉大学では MRI 前向き研究によりステロイド性骨壊死の壊死範囲は変化しうることを報告してきた。すなわち、平均 13.6 年間の経過観察期間で SLE に伴う骨壊死の 49% に自然修復を認めたこと¹⁾、SLE の再燃に伴うステロイド増量により、3% に新たな骨壊死病変の出現を認めたことを報告してきた⁹⁾。過去の報告は、単純 X 線のみでの評価であったり、経過観察期間が短期であったために、壊死範囲の変化を捉えることができなかった可能性が考えられる。

壊死範囲の拡大に関与する因子として SLE 再燃による 30mg/日以上ステロイド増量が示唆された。一方、10 年以上の長期間にわたりステロイド治療が継続されていても、30mg/日未満であれば壊死範囲の拡大は認めなかった。したがって、ステロイド総投与量や総投与期間は骨壊死発生には関係がなく、経口ステロイドの一日投与量が骨壊死の病態に深く関わっていることが示唆された。

本研究の限界として修復組織の組織学的検討を行っていない点があるが、MRI 所見と組織所見が一致することはよく知られており、MRI 上の壊死範囲の変化は壊死組織の変化を示唆していると判断している。

5. 結論

ステロイド性大腿骨頭壊死の壊死範囲の拡大の頻度は、10 年以上の長期 MRI 観察研究において、7% であった。壊死範囲の拡大に関与する因子は経過中の SLE 再燃であり、SLE 再燃時における壊死範囲の拡大の頻度は 23% であった。

6. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakamura J, Harada Y, Oinuma K, Iida S, Kishida S, Takahashi K. Spontaneous repair of asymptomatic osteonecrosis associated with corticosteroid therapy in systemic lupus erythematosus : 10-year minimum follow-up with MRI. *Lupus*. 2010; 19: 1307-1314.

2. 学会発表

- 1) Nakamura J, Harada Y, Oinuma K, Yamashita K, Yamamoto S, Nakajima T, Suzuki C, Iida S: MRI of steroid-induced osteonecrosis in systemic lupus erythematosus:10-year minimum follow-up. 75th Annual Meeting of American Academy of Orthopaedic Surgeons. San Francisco, California. 2008.3.5-9
 - 2) 中村 順一、原田 義忠、山本晋士、中嶋 隆行、池田啓、井上祐三朗、高橋和久. ステロイド性骨壊死症の非圧潰例は原疾患の再燃がなければ自然修復する—SLEにおけるMRI10年経過—、第81回日本整形外科学会学術総会. 札幌、2008.5.22-25
- 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
第55回日本リウマチ学会総会・学術集会
International Workshop Award 及びポスター賞
第三回千葉医学会奨励賞
日本整形外科学会・香港骨科医学会 Exchange
Traveling Fellow
- 8. 参考文献**
- 1) Nakamura J, Harada Y, Oinuma K, Iida S, Kishida S, Takahashi K. Spontaneous repair of asymptomatic osteonecrosis associated with corticosteroid therapy in systemic lupus erythematosus : 10-year minimum follow-up with MRI. *Lupus*. 2010; 19: 1307-1314.
 - 2) Sugano N, Ohzono K, Masuhara K, Takaoka K, Ono K. Prognostication of osteonecrosis of the femoral head in patients with systemic lupus erythematosus by magnetic resonance imaging. *Clin Orthop* 1994; 305: 190-199.
 - 3) Kubo T, Yamazoe S, Sugano N, et al. Initial MRI findings of non-traumatic osteonecrosis of the femoral head in renal allograft recipients. *Magn Reson Imaging* 1997; 15: 1017-1023.
 - 4) Yamamoto T, DiCarlo EF, Bullough PG. The prevalence and clinicopathological appearance of extension of osteonecrosis in the femoral head. *J Bone Joint Surg Br*. 1999; 81: 328-332.
 - 5) Oinuma K, Harada Y, Nawata Y, et al. Osteonecrosis in patients with systemic lupus erythematosus develops very early after starting high dose corticosteroid treatment. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 1145-1148.
 - 6) Nakamura J, Saisu T, Yamashita K, Suzuki C, Kamegaya M, Takahashi K. Age at time of corticosteroid administration is a risk factor for osteonecrosis in pediatric patients with systemic lupus erythematosus: A prospective magnetic resonance imaging study. *Arthritis Rheum*. 2010; 62: 609-615.
 - 7) Sugano N, Atsumi T, Ohzono K, Kubo T, Hotokebuchi T, Takaoka K. The 2001 revised criteria for diagnosis, classification, and staging of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *J Orthop Sci*. 2002; 7: 601-605.
 - 8) 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;16:471-5.
 - 9) Nakamura J, Ohtori S, Sakamoto M, Chuma A, Abe I, Shimizu K. Development of new osteonecrosis in systemic lupus erythematosus patients in association with long-term corticosteroid therapy after disease recurrence. *Clin Exp Rheum*. 2010; 28: 13-18.

SLE の再燃に伴うステロイド増量により、新たな骨壊死病変が出現しうる

中村 順一、重村 知徳、岸田 俊二、高橋 和久
(千葉大学大学院医学研究院 整形外科)

SLE 再燃時の新たな骨壊死の出現頻度を明らかにすることを目的として、ステロイド初期治療後 1 年の時点で骨壊死を認めなかった SLE 106 例 291 関節を 10 年以上前向きに MRI でフォローした。新たな骨壊死は 2%(6 関節)で認めた。PSL30mg/日未満であれば、ステロイドを長期投与しても新たな骨壊死は生じなかった。一方、SLE 再燃によるステロイド増量により新たな大腿骨頭壊死が発生した。骨壊死発生にはステロイドの投与期間や総投与量は関係がなく、一日投与量が関与することが示唆された。

1. 研究目的

副腎皮質ステロイドは大腿骨頭壊死の背景因子とされる。ステロイド投与後数ヶ月で骨壊死が生じ、一日最大投与量が骨壊死発生に関与するとの報告¹⁾はあるが、長期投与によるステロイドの蓄積性との関連は不明である。また、全身性エリテマトーデス(SLE)をはじめとする膠原病は生涯ステロイド治療を要することが多く、現疾患の再燃のためにステロイド増量を余儀なくされることが少なくない²⁾。

本研究の目的は、長期間にわたる MRI 経過観察研究により、ステロイド長期投与による骨壊死の発生頻度を明らかにすること、及び骨壊死発生の危険因子を明らかにすることである。

2. 研究方法

1986 年から 1997 年までに千葉大学医学部附属病院整形外科を初診した全身性エリテマトーデス(SLE)患者 201 例を前向きに調査した。MRI で 1 症例につき両股・両膝 4 関節の骨壊死スクリーニングを行い³⁻⁴⁾、初回ステロイド投与後 1 年の時点で骨壊死を生じなかった症例のうち、MRI で 10 年以上経過観察しえたものを選択基準とした。対象は 106 例 291 関節(134 股 157 膝)であった。経過観察期間は 13.6 年間、経過観察率は 71%であった。

検討項目は、経過観察期間における新たな骨壊死の発生頻度と骨壊死発生に関与する因子である。壊死発生の定義については、厚生省診断基準⁵⁻⁶⁾で MRI 所見を認めたものとした。新たな骨壊死発生に関与する

因子は、初回ステロイド投与時年齢、経過中の SLE 再燃の有無と回数、ステロイド総投与量、平均投与量、投与期間、初回及び再燃時の一日最大投与量、飲酒、喫煙、抗リン脂質抗体症候群とした。SLE 再燃の定義は PSL30mg/日以上増量を要した場合とした⁴⁾。

3. 研究結果

新たな骨壊死の発生頻度は 2%(291 関節中 6 関節;2 股 4 膝)であった。初回ステロイド投与から新たな骨壊死発生までの期間は平均 5.9 年間(1.3-9.9 年間)であった。骨壊死発生は 6 関節すべてが SLE 再燃後に認めた。SLE 再燃から新たな骨壊死発生までの期間は平均 6.2 カ月間(3-11 カ月間)であった。

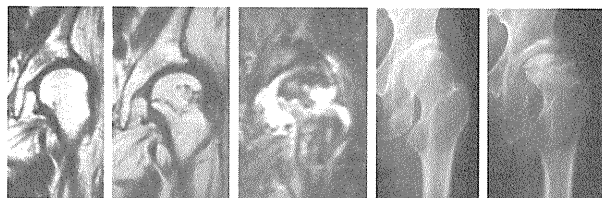
経過観察期間において、SLE 再燃なし群は 55%(160 関節;66 股 94 膝)であり、SLE 再燃あり群は 45%(131 関節;68 股 63 膝)であった。新たな骨壊死発生と SLE 再燃の関係については、SLE 再燃あり群 131 関節中 6 股(5%)で骨壊死発生を認めたが、SLE 再燃なし群では 0%であり、Fisher's exact probability test で有意差を認めた($p=0.008$)。

その他の因子については、新たな骨壊死との関連性を認めなかった。

症例供覧

症例 1 52 歳女性。初回ステロイド投与後 12 年の時点(SLE 再燃前)で、MRI で骨壊死所見は認めなかった(図 1A)。単純 X 線像では臼蓋形成不全を認めた(図 1D)。SLE 再燃後 6 カ月で広範な大腿骨頭壊死を認め(図 1B)、

間もなく圧潰し骨髄浮腫を認めた(図 1C)。単純 X 線像でも骨頭変形を認めた(図 1E)。人工股関節全置換術を



施行した。

図 1A 図 1B 図 1C 図 1D 図 1E

図 1A:左股 MRI T1 強調像(SLE 再燃前)

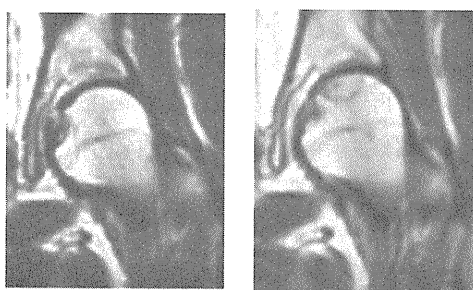
図 1B:左股 MRI T1 強調像(SLE 再燃後 6 ヶ月)

図 1C:左股 MRI STIR 像(骨頭圧潰時)

図 1D:左股単純 X 線像(SLE 再燃前)

図 1E:左股単純 X 線像(骨頭圧潰時)

症例 2 21 歳女性。初回ステロイド投与後 5 年の時点



(SLE 再燃前)で、MRI で骨壊死所見は認めなかった(図 2A)。SLE 再燃後 6 ヶ月で typeC1 の大腿骨頭壊死が出現した(図 2B)。

左股 MRI T1 強調像

図 2A 図 2B

SLE 再燃前 SLE 再燃後 6 ヶ月

4. 考察

骨壊死はステロイド大量投与後数ヶ月で発生し、1 年以上には生じないとされてきた¹⁾。本研究結果から、30mg/日未満のステロイドであれば 10 年以上投与しても、SLE 患者に骨壊死は生じないことが示唆された。従って、ステロイドの長期作用に関して、総投与量と投与期間は骨壊死発生には関与しないことが示唆された。

一方、SLE の再燃に伴うステロイド増量により、新たな骨壊死病変が出現した。これまで SLE 再燃と骨壊死発生の関連は報告がない。本研究は、骨壊死を有しない SLE 患者の長期自然経過を MRI で評価した、最初の前向き研究である。本研究では SLE 再燃は全体の 45%にみられ、30mg/日以上ステロイド

増量を要した。従って、ステロイド大量療法が新たな骨壊死発生に関与することが示唆された。SLE 再燃時には新たな骨壊死が出現しうるため、MRI による骨壊死スクリーニングを行うことが望ましい。

SLE 再燃時の骨壊死発生頻度は初回ステロイド治療時の発生頻度より低いことが示唆された(3%対 44%)。一つの仮説として、ステロイド感受性の個体差が骨壊死発生の差に関与している可能性がある⁷⁾。つまり、初回ステロイド投与時に骨壊死発生を免れた症例は骨壊死発生に耐性があり、SLE 再燃時においても骨壊死を生じにくい可能性が示唆される。

本研究の限界として、個々のステロイド量をブレドニン換算して評価していること、抗リン脂質抗体症候群の合併例の評価が十分でないこと、抗凝固薬や高脂血症薬、骨粗鬆症薬などその他の薬剤の影響が不明であることが挙げられる。

5. 結論

初回ステロイド投与後 1 年以降の骨壊死の発生頻度は、10 年以上の長期 MRI 観察研究において、2%であった。新たな骨壊死の発生に関与する因子は経過中の SLE 再燃であり、SLE 再燃時における新たな骨壊死の発生頻度は 5%であった。

6. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakamura J, Ohtori S, Sakamoto M, Chuma A, Abe I, Shimizu K. Development of new osteonecrosis in systemic lupus erythematosus patients in association with long-term corticosteroid therapy after disease recurrence. Clin Exp Rheum. 2010; 28: 13-18.

2. 学会発表

- 1) Nakamura J, Harada Y, Oinuma K, Yamashita K, Yamamoto S, Nakajima T, Suzuki C, Iida S: MRI of steroid-induced osteonecrosis in systemic lupus erythematosus:10-year minimum follow-up. 75th Annual Meeting of American Academy of Orthopaedic Surgeons. San Francisco, California. 2008.3.5-9
- 2) 中村 順一、原田 義忠、山本晋士、中嶋 隆行、池田啓、井上祐三朗、高橋和久. SLE における骨壊死症は維持量のステロイドを長期に投与しても

生じないーMRIによる10年経過ー、第81回日本整形外科学会学術総会. 札幌、2008.5.22-25

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
第三回千葉医学会奨励賞

8. 参考文献

- 1) Oinuma K, Harada Y, Nawata Y, et al.
Osteonecrosis in patients with systemic lupus erythematosus develops very early after starting high dose corticosteroid treatment. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 1145-1148.
- 2) Shigemura T, Nakamura J, Kishida S, Harada Y, Ohtori S, Kamikawa K, Ochiai N, Takahashi K.
Incidence of osteonecrosis associated with corticosteroid therapy among different underlying diseases: prospective MRI study. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50:2023-8.
- 3) Nakamura J, Saisu T, Yamashita K, Suzuki C, Kamegaya M, Takahashi K. Age at time of corticosteroid administration is a risk factor for osteonecrosis in pediatric patients with systemic lupus erythematosus: A prospective magnetic resonance imaging study. *Arthritis Rheum*. 2010; 62: 609-615.
- 4) Nakamura J, Harada Y, Oinuma K, Iida S, Kishida S, Takahashi K. Spontaneous repair of asymptomatic osteonecrosis associated with corticosteroid therapy in systemic lupus erythematosus : 10-year minimum follow-up with MRI. *Lupus*. 2010; 19: 1307-1314.
- 5) Sugano N, Atsumi T, Ohzono K, Kubo T, Hotokebuchi T, Takaoka K. The 2001 revised criteria for diagnosis, classification, and staging of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *J Orthop Sci*. 2002;7:601-605.
- 6) Nakamura J, Kishida S, Harada Y, Iida S, Oinuma K, Yamamoto S, Nakajima T, Takazawa M, Shigemura T, Ohtori S, Sato Y, Takahashi K. Inter-observer and intra-observer reliabilities of the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare type classification system for osteonecrosis of the femoral head. *Mod Rheumatol*. 2011;21:488-94.
- 7) Masada T, Iwakiri K, Oda Y, Kaneshiro Y, Iwaki H, Ohashi H, Takaoka K. Increased hepatic cytochrome P4503A activity decreases the risk of developing steroid-induced osteonecrosis in a rabbit model. *J Orthop Res*. 2008;26:91-5.

特発性大腿骨頭壊死症における股関節液中サイトカイン濃度の検討

阿部裕仁 坂井孝司 高尾正樹 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)

中村宣雄 (協和会病院 人工関節センター)

安藤渉 大園健二 (関西労災病院 整形外科)

三木秀宣 (国立大阪医療センター 整形外科)

特発性大腿骨頭壊死症(ION)16例 16関節の関節液中サイトカイン濃度を測定し、変形性股関節症(OA)21例 22関節、急速破壊型股関節症(RDC)27例 28関節と比較した。ION stage 3Bはstage 4に比して有意にIL-6濃度が高値であった。OAとION stage4に差はなかったが、ION stage 3BはOAに比して有意にIL-1 β , IL-6, IL-8が高値であった。RDCはOAに比して有意にIL-1 β , IL-8, TNF- α が高値であった。

1. 研究目的

特発性大腿骨頭壊死症(ION)の関節液中マーカーに関しては、ケラタン硫酸や MMP-3 が変形性股関節症(OA)と比して高値であることや、COMP や TIMP-1 が early stage で Late stage に比して高値であることなどが報告されている¹⁻³⁾。我々はIONにおいて破骨細胞を含む TRAP 陽性細胞の reparative interface zone での分布について報告してきた⁴⁾。破骨細胞を活性化する因子として、IL-1 β 、IL-6、TNF- α などの炎症性サイトカインが報告されている^{5,6)}。関節液中サイトカイン濃度に関しては、膝関節について IL-1 β 、IL-8、TNF- α が関節リウマチでOAに比して有意に高値であることが報告されている⁷⁻⁹⁾。しかし、股関節液中サイトカイン濃度についての報告は少なく、IONの股関節液中サイトカインに関する報告はない^{10,11)}。本検討の目的は人工股関節全置換術(THA)施行時に採取したIONの股関節液中サイトカイン濃度を測定し、その特徴を明らかにすることである。

2. 研究方法

2004～2011年にTHAを施行したION16関節を対象とし、変形性股関節症(OA)22関節、急速破壊型股関節症(RDC)28関節を比較対象とした。IONはStage3B:6関節、Stage4:10関節であった。OA、RDCでは全例で関節裂隙の消失を認めた。患者背景を表1に示す。

関節液は、採取直後に遠心分離により血球成分を除去したのちに-80℃で冷凍保存した。測定には

Homogenous Time Resolved Fluorescence (HTRF)を用いた。HTRFは、ELIZAに比して工程が簡便で正確性が高いと報告されている¹²⁾。測定した項目は、IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α である。IONでのStage間および疾患間でのサイトカイン濃度の差を調査した。統計にMann-Whitney U testを用い、 $p<0.05$ を有意とした。

3. 研究結果

ION股関節液においてstage3BではIL-6がstage4に対し有意に高値であった(Stage 3B: 1117 \pm 1394pg/ml、stage 4: 707 \pm 708pg/ml、 $p=0.03$) (表2)。IONとOAの比較では、ION stage 4とOA間では有意差を認めなかったが、ION stage 3BはOAに対し、IL-1 β 、IL-6、IL-8が有意に高値であった(表3、図1)。

RDCとOAの比較では、RDCがOAに対し、IL-1 β 、IL-8、TNF- α が有意に高値であった(表4)。

表1:患者背景比較

	関節	性別(男/女)	年齢(歳)
ION	16	6/10	52.4 \pm 16.4
OA	22	2/20	69.8 \pm 10.4
RDC	28	3/25	75.2 \pm 6.9

表 2:ION 病期間での股関節液中サイトカイン濃度比較

ION病期	Stage 3B 6関節	Stage 4 10関節	Mann-Whitney U test (p値)
IL-1β (pg/ml)	1117±1394	871±1276	0.35
IL-6 (pg/ml)	2478±2076	707±708	0.03
IL-8 (pg/ml)	3906±4338	2204±2552	0.64
TNF-α (pg/ml)	1278±2157	927±1051	0.99

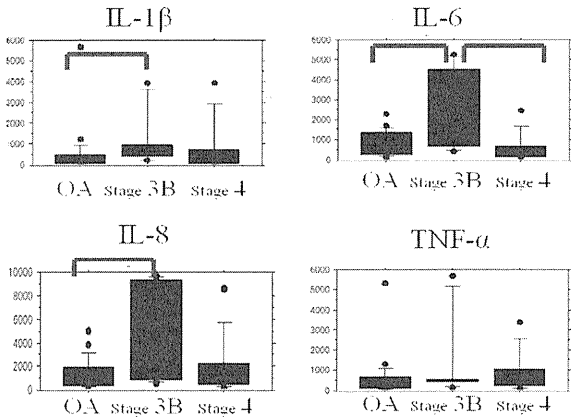
表 3:ION stage 3B と OA の股関節液中サイトカイン濃度比較

	ION Stage 3B 6関節	OA 22関節	Mann-Whitney U test (p値)
IL-1β (pg/ml)	1117±1394	516±1166	0.03
IL-6 (pg/ml)	2478±2076	829±600	0.04
IL-8 (pg/ml)	3906±4338	1205±1290	0.04
TNF-α (pg/ml)	1278±2157	568±1083	N.S.

表 4:RDC と OA の股関節液中サイトカイン濃度比較

	RDC 28関節	OA 22関節	Mann-Whitney U test (p値)
IL-1β (pg/ml)	793±1195	516±1166	0.02
IL-6 (pg/ml)	1207±1175	829±600	N.S.
IL-8 (pg/ml)	3291±2589	1205±1290	0.0002
TNF-α (pg/ml)	982±1478	568±1083	0.009

図 1:箱ひげ図。OA と ION stage3B および Stage4 との比較



4. 考察

ION の関節液中軟骨代謝マーカーの報告は散見される¹⁻³⁾。ケラタン硫酸や COMP、TIMP-1 は early stageの方が late stage に比して高濃度であり、病期がマーカーの濃度に影響することが報告されている。しかし、ION 関節液中炎症性サイトカイン濃度に関する報告はない。本検討では ION stage 3B において、IL-6 濃度が

stage 4 に比して有意に高値であることが示された。ION stage 4 は OA と同等のサイトカイン濃度を示し、OA 変化が出現後は、通常の OA と同じ挙動を示すことが明らかになった。

RDC は OA に比して関節液中 IL-1 β、IL-8、TNF-α 濃度が高値であった。RDC の関節液中マーカーとしては、血中 MMP-3、MMP-9、type I collagen C-peptide や尿中 type II collagen C-telopeptide が報告されている¹³⁻¹⁵⁾。しかし関節液中マーカーの報告はない。ION で病期がサイトカイン濃度に影響することを考慮すると、関節破壊進行前の RDC では、さらに高値を示している可能性があり、RDC と OA との鑑別に有用である可能性がある。

ION における reparative interface zone および RDC における軟骨下領域に TRAP 陽性細胞が存在することを我々は報告した¹⁶⁾。しかし、破骨細胞の活性化因子に関しては明らかではない。RA 同様にサイトカインが関与している可能性は考えられるが、本研究では ION、Stage3B、Stage4 の症例と RDC では関節破壊進行後の症例のみであり、現段階では明らかではない。今後も stage 1、stage 2、stage 3A の症例よりの関節液を収集し、検討を続けていく予定である。

5. 結論

ION において関節液中 IL-6 濃度は Stage3B で Stage4 よりも高値であった。股関節圧壊の程度と関節液中 IL-6 濃度との関連性が示唆された。

6. 研究発表

- 1. 論文発表
なし
- 2. 学会発表
 - 1) 阿部裕仁、坂井孝司、安藤渉、西井孝、高尾正樹、中村宜雄、吉川秀樹、菅野伸彦:急速破壊型股関節における関節液中サイトカイン濃度の検討. 第 26 回日本整形外科学会基礎学術集会:2011.10.21
 - 2) Abe H, Sakai T, Ando W, Nishii T, Takao M, Sugano N:Comparison of cytokine levels in the joint fluid between rapidly destructive coxopathy, hip osteoarthritis, hip osteonecrosis, and rheumatoid arthritis. 75th annual scientific meeting

of America College of Rheumatology (ACR),
Chicago, 2011.2.7

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) Kato S, Yamada H, Terada N, Masuda K, Lenz ME, Morita M, Yoshihara Y, Henmi O. Joint biomarkers in idiopathic femoral head osteonecrosis: comparison with hip osteoarthritis. *JRheumatol*. 2005; 32: 1518-23.
- 2) Jingushi S, Lohmander LS, Shinmei M, Hoerrner LA, Lark MW, Sugioka Y, Iwamoto Y. Markers of joint tissue turnover in joint fluids from hips with osteonecrosis of the femoral head. *J Orthop Res*. 2000; 18: 728-33.
- 3) Iwase T, Hasegawa Y, Ishiguro N, Ito T, Iwasada S, Kitamura S, Iwata H. Synovial fluid cartilage metabolism marker concentrations in osteonecrosis of the femoral head compared with osteoarthritis of the hip. *J Rheumatol*. 1998; 25: 527-31.
- 4) Li W, Sakai T, Nishii T, Nakamura N, Takao M, Yoshikawa H, Sugano N. Distribution of TRAP-positive cells and expression of HIF-1alpha, VEGF, and FGF-2 in the reparative reaction in patients with osteonecrosis of the femoral head. *J Orthop Res*. 2009; 27: 694-700.
- 5) Dewhirst FE, Stashenko PP, Mole JE, Tsurumachi T. Purification and partial sequence of human osteoclast-activating factor: identity with interleukin 1 beta. *J Immunol*. 1985; 135: 2562-8.
- 6) Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S, Kawakami A, Eguchi K, Sasaki H, Sakai H. Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000; 275: 768-75.
- 7) Koch AE, Kunkel SL, Burrows JC, Evanoff HL, Haines GK, Pope RM, Strieter RM. Synovial tissue macrophage as a source of the chemotactic cytokine IL-8. *J Immunol*. 1991; 147: 2187-95.
- 8) Hussein MR, Fathi NA, El-Din AM, Hassan HI, Abdullah F, Al-Hakeem E, Backer EA. Alterations of the CD4(+), CD8 (+) T cell subsets, interleukins-1beta, IL-10, IL-17, tumor necrosis factor-alpha and soluble intercellular adhesion molecule-1 in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: preliminary observations. *Pathol Oncol Res*. 2008; 14: 321-8.
- 9) Xiu ZB, Chen WT, Sun KM. Study on correlation between the pathological changes under arthroscopy and the cytokine levels in the knee osteoarthritis of the Blood Stasis type. *Zhongguo Gu Shang*. 2010; 23: 890-3.
- 10) Xie J, Naito M, Maeyama A. Intracapsular pressure and interleukin-1beta cytokine in hips with acetabular dysplasia. *Acta Orthop*. 2010; 81: 189-92.
- 11) Komiya S, Inoue A, Sasaguri Y, Minamitani K, Morimatsu M. Rapidly destructive arthropathy of the hip. Studies on bone resorptive factors in joint fluid with a theory of pathogenesis. *Clin Orthop Relat Res*. 1992; 284: 273-82.
- 12) Enomoto K, Aono Y, Mitsugi T, Takahashi K, Suzuki R, Préaudat M, Mathis G, Kominami G, Takemoto H. High throughput screening for human interferon-gamma production inhibitor using homogenous time-resolved fluorescence. *J Biomol Screen*. 2000; 5: 263-8.
- 13) Masuhara K, Nakai T, Yamaguchi K, Yamasaki S, Sasaguri Y. Significant increases in serum and plasma concentrations of matrix metalloproteinases 3 and 9 in patients with rapidly destructive osteoarthritis of the hip. *Arthritis Rheum*. 2002; 46: 2625-31.
- 14) Berger CE, Kröner A, Stiegler H, Leitha T, Engel A. Elevated levels of serum type I collagen