

平成 21 年 4 月 10 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2006 ～ 2008
 課題番号：18591665
 研究課題名 (和文) 脂質代謝異常および過凝固の観点からのステロイド性骨壊死の病態解析と予防法の開発
 研究課題名 (英文) The pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis based on hyperlipidemia and hypercoagulation
 研究代表者
 山本 卓明 (Yamamoto Takuaki)
 九州大学・大学病院・助教
 研究者番号：20336035

研究成果の概要：

ステロイド投与時にみられる凝固異常と脂質代謝異常の両者を抑制することは、ステロイド性骨壊死発生の予防の一助となる可能性がステロイド性骨壊死動物モデルを用いて実験的に示唆された。さらに、HMG-CoA 還元酵素阻害剤であるピタバスタチンは、第3世代のスタチン系製剤で、強力な総コレステロール低下作用および HDL-コレステロール上昇作用を有しているが、本薬剤もステロイド性骨壊死の予防効果があることが実験的に示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,500,000	0	1,500,000
2007 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	600,000	4,100,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：骨壊死、ステロイド、脂質代謝異常、過凝固、病理

1. 研究開始当初の背景

ステロイド性大腿骨頭壊死症は、原疾患治療の為に用いたステロイド剤に関連して発生する重篤な合併症の1つである。本症はステロイド剤の使用頻度の増加に伴い、発生数が増加しており、現在は全大腿骨頭壊死症のうち約半分を占めるほどになっている。本疾患は、ステロイドしか有効な治療方法がない患者にとって、原疾患は落ち着いたが、その結果歩けなくなったという二重の精神的、肉体的苦痛を強いるものであり、大きな社会的問題となっている。

本症の病態解明および予防法開発は、本疾患罹患者のみならず膠原病などステロイド剤を使用せざるを得ない患者から、我々骨壊死研究者に寄せられる切なる要望である。

2. 研究の目的

ステロイド性大腿骨頭壊死症は、基礎疾患の治療のために用いたステロイド剤に伴って発生することが多く、ステロイド治療を受けざるを得ない患者にとって、骨壊死発生の予防法開発は重要な問題である。これまでの骨壊死の発生予防に関する報告は、抗凝固剤

または抗高脂血症剤の単独投与によるものが多い。本研究では、抗凝固剤及び抗高脂血症剤の併用投与が骨壊死発生に及ぼす影響を、動物モデルを用いて検証した。

3. 研究の方法

我々がこれまでに開発した家兎ステロイド性骨壊死モデル、すなわちメチルプレドニゾロン（以下 MP SL）20mg/kg を一回のみ右臀筋内に注射することによるステロイド性骨壊死モデル、を用いた。28 週齢から 32 週齢の成熟雄日本白色家兎 91 羽を、以下の 4 群に分けた：ワーファリン及びプロブコールを投与した群（WP；n=21）、プロブコールのみを投与した群（PR；n=29）、ワーファリンのみを投与した群（WA；n=21）、予防薬投与を行わないコントロール群（NP；n=20）である。プロブコールは 10%添加餌として 300mg/kg/日を、MP SL 注射前 2 週より計 4 週間毎日経口投与した。ワーファリンは 0.1%添加餌として 1.5mg/kg/日を、MP SL 注射前 1 週より計 3 週間毎日経口投与した。MP SL 注射後 2 週後で両大腿骨及び上腕骨の近位 1/3 及び遠位（計 8 部位）で、病理組織学的に骨壊死を検索した。検索した 8 部位のうち、少なくとも一つに骨壊死が認められた場合骨壊死発生家兎とした。また、骨壊死発生家兎 1 羽あたりの骨壊死数を算出した。

骨髄脂肪細胞径は、近位大腿骨標本の非壊死領域からランダムに選択した 4 部位（1 部位 = $4 \times 10^{-8} \text{ m}^2$ ）における 100 個の骨髄脂肪細胞長径を NIH image software を用いて測定した。血液は早朝空腹時に耳動脈より、MP SL 注射の直前、1 週後、及び 2 週後に採取した。プロトロンビン時間（PT-INR）、low-density lipoprotein（LDL）、very low-density lipoprotein（VLDL）、中性脂肪、LDL/HDL-コレステロール比を測定した。

4. 研究成果

実験期間中（週 0 から週 2 の間）の体重減少量は、NP 群で $346 \pm 146 \text{ g}$ 、PR 群で $390 \pm 133 \text{ g}$ 、WA 群で $353 \pm 153 \text{ g}$ 、WP 群で $333 \pm 97 \text{ g}$ で、各群において有意差はなかった。骨壊死発生頻度は、WP 群では 21 羽中 1 羽（5%）、PR 群では 29 羽中 11 羽（38%）、WA 群では 21 羽中 7 羽（33%）、及び NP 群では 20 羽中 14 羽（70%）であった。WP 群、PR 群、及び WA 群における骨壊死発生率は NP 群に比し有意に低下していた（ $p < 0.0001$ 、 $p < 0.05$ 、及び $p < 0.05$ ）。PR 群及び WA 群における骨壊死発生率は WP 群に比し有意に高かった（ $p < 0.01$ 及び $p < 0.05$ ）。骨壊死発生家兎 1 羽あたりの骨壊死数に関しては、NP 群で 1.4 ± 0.5 、PR 群で 1.5 ± 0.9 、WA 群で 1.7 ± 0.8 、WP 群の骨壊死発生家兎 1 羽において 2.0 で、各群間に有意差を認めなかった。WP 群における骨髄脂肪細胞径

（ $53.5 \pm 4.1 \mu \text{ m}$ ）は NP 群（ $60.0 \pm 4.0 \mu \text{ m}$ ）に比し有意に小さかった（ $p < 0.01$ ）。PR 群における骨髄脂肪細胞径（ $52.0 \pm 5.0 \mu \text{ m}$ ）は NP 群（ $p < 0.01$ ）及び WA 群（ $56.9 \pm 4.5 \mu \text{ m}$ ； $p < 0.05$ ）よりも有意に小さかった。WP 群及び PR 群間には有意差を認めなかった。NP 群において、骨壊死発生家兎における骨髄脂肪細胞径（ $61.6 \pm 3.5 \mu \text{ m}$ ）は骨壊死非発生家兎（ $56.3 \pm 2.2 \mu \text{ m}$ ）よりも有意に増大していた（ $p < 0.005$ ）。一方、PR 群においては骨壊死発生家兎（ $52.8 \pm 4.5 \mu \text{ m}$ ）と骨壊死非発生家兎（ $51.5 \pm 5.4 \mu \text{ m}$ ）間に有意差は認めなかった。WP 群及び WA 群における PT-INR は NP 群または PR 群に比し、有意に高値を維持しており、凝固活性を抑制していた（ $p < 0.01$ 及び $p < 0.05$ ）。WP 群における LDL レベルは NP 群及び WA 群に比し、有意に低下していた（ $p < 0.05$ ）。PR 群における LDL レベルも NP 群及び WA 群に比し、有意に低下していた（ $p < 0.05$ ）。WP 群における LDL/HDL-コレステロール比は NP 群に比し、有意に低下していた（ $p < 0.05$ ）。PR 群における LDL/HDL-コレステロール比もまた NP 群に比し、有意に低下していた（ $p < 0.05$ ）。

さらに、ステロイド性骨壊死モデルを用いて、HMG-CoA 還元酵素阻害剤であるピタバスタチンによる骨壊死予防効果も検討した。骨壊死発生率は、ステロイド単独投与群で 30 羽中 21 羽（70%）、ピタバスタチン投与群は 35 羽中 13 羽（37%）と有意に低下していた（ $P < 0.05$ ）。病理組織学的には、骨壊死の病理像は両群とも同様で、肉眼的に骨髄は全体的に黄褐色調を呈していた。壊死部分は白色調を呈しており、健常部と肉眼的に識別可能であった。病理組織学的には、壊死層、修復反応層、そして健常部の層状構造を呈しており、骨壊死巣内では骨梁内骨細胞の核は空胞化あるいは濃縮しており、周囲に骨髄造血細胞壊死、脂肪細胞壊死を伴っていた。両群において、骨髄内の脂肪細胞径を検討した。骨髄脂肪細胞 100 個について、その長径を測定し比較した。ピタバスタチン投与群は $56.6 \pm 10.0 \mu \text{ m}$ 、ステロイド単独投与群では $60.0 \pm 4.0 \mu \text{ m}$ と、ピタバスタチン投与により有意な脂肪細胞径の縮小を認めた（ $P < 0.05$ ）。血液データについては、T-cho1、および LDL-C は、ピタバスタチン投与群で、有意に低下を認めたが、他のマーカーでは有意差を認めなかった。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 10 件）

- ① Yamamoto T, Schneider R, Iwamoto Y, Bullough PG: Subchondral insufficiency

- fracture of the femoral head in a patient with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 65: 837-838, 2006 (査読有)
- ② Yamamoto T, Schneider R, Iwamoto Y, Bullough PG: Rapid destruction of the femoral head after a single intraarticular injection of corticosteroids into the hip joint. *J Rheumatol* 33: 1701-1704, 2006 (査読有)
- ③ Miyanishi K, Yamamoto T, Irisa T, Yamashita A, Motomura G, Jingushi S, Iwamoto Y: Effects of cyclosporin A on the development of osteonecrosis in rabbits. *Acta Orthop Scan* 77: 813-819, 2006 (査読有)
- ④ Yamamoto T, Schneider R, Iwamoto Y, Bullough PG: Rapid acetabular osteolysis secondary to subchondral insufficiency fracture. *J Rheumatol* 34: 592-595, 2007 (査読有)
- ⑤ Yamamoto T, Iwamoto Y, Schneider R, Bullough PG: Histopathologic prevalence of subchondral insufficiency fracture of the femoral head. *Ann Rheum Dis* 67: 150-153, 2008 (査読有)
- ⑥ Yamamoto T, Schneider R, Iwamoto Y, Bullough PG: Rapid destruction of the hip joint in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 67: 1783-1784 2008 (査読有)
- ⑦ Nishida K, Yamamoto T, Motomura G, Jingushi S, Iwamoto Y: Pitavastatin may reduce risk of steroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Clin Orthop Relat Res* 466: 1054-1058, 2008 (査読有)
- ⑧ Miyanishi K, Yamamoto T, Irisa T, Yamashita A, Motomura G, Jingushi S, Iwamoto Y: Effects of Tacrolimus (FK506) on the development of osteonecrosis in a rabbit model. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 30(1): 79-90, 2008 (査読有)
- ⑨ Motomura G, Yamamoto T, Miyanishi K, Kondo K, Hirota Y, Iwamoto Y: Risk factors for developing osteonecrosis after prophylaxis in steroid-treated rabbits. *J Rheumatol* 35: 2391-2394, 2008 (査読有)
- ⑩ Motomura G, Yamamoto T, Irisa T, Miyanishi K, Nishida K, Iwamoto Y: Dose effects of corticosteroids on the development of osteonecrosis in rabbits. *J Rheumatol* 35: 2395-2399, 2008 (査読有)
- [学会発表] (計 5 件)
- ⑪ Yamamoto T, Iwamoto Y.: Capital femoral necrosis. The 33rd International Skeletal Society Annual Meeting. September 13-19, 2006, Vancouver, Canada
- ⑫ Yamamoto T, Iwamoto Y.: Marrow edema syndromes, infarction and insufficiency fracture. The 33rd International Skeletal Society Annual Meeting. September 13-19, 2006, Vancouver, Canada
- ⑬ Yamamoto T, Iwamoto Y. Osteonecrosis, subchondral fractures and bone marrow edema. The 34th International Skeletal Society Annual Meeting. October 10-14, 2007, Budapest, Hungary
- ⑭ Yamamoto T, Iwamoto Y. Subchondral insufficiency fracture: What is different from Osteonecrosis? The 6th Combined Meeting of the Orthopaedic Societies of Australia/New Zealand, Britain, Canada,

Europe, Japan, Korea, Taiwan, USA.
October 20-24, 2007. Honolulu, Hawaii,
USA

- ⑮ Yamamoto T, Iwamoto Y. Osteonecrosis,
bone marrow edema, subchondral
fracture. Can we tell them apart and does
it matter clinically? The 35th International
Skeletal Society Annual Meeting.
October 29- November 1, 2008, New
Delhi, India

〔図書〕（計 2 件）

- ① 山本卓明、岩本幸英：特発性大腿骨
頭壊死症. 骨軟部画像診断のここが
鑑別ポイント 福田国彦（編）：
pp192-193、羊土社、2007
- ② 山本卓明、岩本幸英：大腿骨頭軟骨
下脆弱性骨折と一過性大腿骨頭萎縮
症. 骨軟部画像診断のここが鑑別ポ
イント 福田国彦（編）： pp194-195、
羊土社、2007

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 卓明 (YAMAMOTO TAKUAKI)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：20336035