

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007-2008

課題番号：19591425

研究課題名（和文） ステロイド骨症の骨力学特性に関する骨量と骨質の解明

研究課題名（英文） Analysis of bone mass and quality associated with biomechanical property in glucocorticoid osteopathy

研究代表者 伊東 昌子 (ITO MASAKO)

長崎大学・医学部・歯学部附属病院・准教授

研究者番号 10193517

研究成果の概要：

グルチコルチコイド(GC)は、骨密度に対して以上に、骨質を悪化させて骨脆弱化を高めると考えられるが、その実態は明らかにされていない。骨細胞群、骨微細構造、コラーゲン架橋に対する GC の作用を、同じ症例の同一骨から得られた標本で解析した。結果として、1)骨細胞アポトーシスを示唆する empty lacunae の増加を認めた。破骨細胞の増加は認めなかった 2)コラーゲン生理的架橋の減少・AGEs 架橋の軽度の減少が見られた 3)骨梁構造悪化以上に、最大強度の減少が認められた

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学

キーワード：骨質、ステロイド、骨強度、コラーゲン架橋、骨構造、骨細胞

1. 研究開始当初の背景

- (1) 原発性骨粗鬆症において骨質の重要性が指摘され、その内容についても解明が進んでいる。骨質といっても多くの要素があり、それらの変化を捉えて、骨力学特性の変化に関連する要素を検討することは意味がある。
- (2) ステロイド投与による副作用としての骨粗鬆症（ステロイド骨症）は、

種々の基礎疾患において投与量や投与期間によらず発症し、その予測が骨密度測定だけでは限界があるため診断には苦渋することが多い。しかもステロイド骨症に伴う重度の骨折が発症しても、ステロイド投与を継続しなければならない症例がほとんどである。

- (3) ステロイド骨症においては、比較的高い骨密度で骨折を発生することが知

られており、骨質が劣化していると考えられてきたが、その実態については解明されていなかった。

2. 研究の目的

当初の本研究の目的は、以下の3項目であった。3)に関しては2)の研究成果に基づき検討される項目であり、今回の研究では、達成することができなかった。

1)ステロイド骨症の患者における臨床的な骨量、骨梁構造解析をおこない、臨床的に得られるデータを下記の骨質データと対比することで、臨床的評価法を検討する。
2)摘出骨標本の多面的骨質(骨梁構造、マイクロダメージ、骨代謝関連細胞動態、ハイドロキシアパタイト配向性、石灰化度など)解析を行い、ステロイドによる骨質変化の特徴を明らかにする

3)解明された骨質因子の骨強度への関与度を検討し、それぞれの因子を考慮した画像に基づくシミュレーションによって、骨強度を予測する方法を検討する、ことである。

3. 研究の方法

対象:

ステロイド骨症で大腿骨頭壊死のために手術を施行した6症例(女性5例、男性1例)において、摘出された大腿骨頭と頸部を対象とした。また対照として変形性股関節症例4例(女性3例、男性1例)である。各研究協力者においては、個々の施設で有する独自の対照群との比較を行った。長崎大学では、大腿骨頸部骨折症例(女性14例、男性2例)を独自の対照群とした。

解析方法・内容

1. 骨梁構造解析

冷凍保存した標本を5mm立方標本に切り出しマイクロCTデータを収集する。このとき骨梁方向をCTで確認して、骨梁方向に一致した方向で5mm立方標本に切り出す。その後骨強度試験用として保存する。

2. 骨マイクロダメージ、石灰化度の解析

大腿骨頸部の皮質骨をホルマリン固定したのち bulk 染色し、非脱灰標本で解析を行う。

3. 基質・元素解析

標本はタンパク固定を行う。海綿骨部分3mm立方の標本として、解析をおこなう。

4. HA配向性測定

皮質骨部位(頸部)1mm厚 10mm平方の標本として切り出し、10%中性ホルマリンで冷蔵庫中(4)保存する。測定前に切断研磨して計測をおこなう。

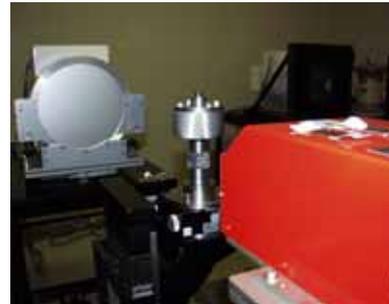
5. 骨強度試験

日本ファインセラミックセンターにて強度試験(委託実験)を行う。強度試験前後にマイクロCTデータを収集する。

(A)



(B)



(C)



図は上から、(A)構造解析および強度解析のために切り出したサンプル(B)マイクロCT撮像(C)圧縮強度試験の状況を示す。

6. 動物実験

臨床の検討と平行して、ステロイド骨症の病態解明のためのモデルの作成を行った。具体的には、遺伝操作が可能な

C57BL/B6 マウスにおいて、ブレドにゾロンのペレットを頸部に植え込み、3か月間ステロイドを徐放し、マイクロCT、骨形態計測法を施行した。

4. 研究成果

1) コラーゲン架橋

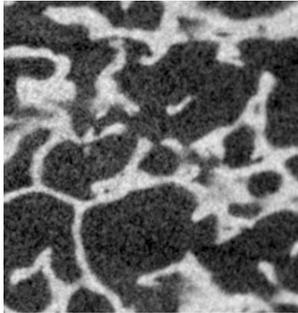
コラーゲン生理的架橋の減少ならびにAGEs架橋の軽度の減少が見られた。未熟架橋に対する成熟架橋の比(成熟度)は、正常であった。

2) 骨代謝に関わる細胞群および基質・元素解析

骨細胞アポトーシスを示唆する empty lacunae の増加を認めた。破骨細胞の増加は認めなかった。

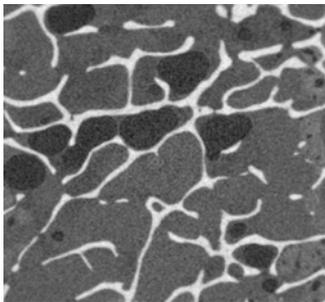
3) 骨微細構造と骨強度試験の結果

以下は、マイクロCTで観察した海綿骨骨梁の画像である。



上図は、41歳女性 SLEにて長期ステロイド投与症例のマイクロCT画像である。骨梁表面は不整、骨梁幅も不整であり、一部は微少骨折後である可能性も考えられる。

下記に対照群(77歳男性 大腿骨頸部骨折症例)のマイクロCT画像を示す。



骨梁構造パラメーター(表1)および骨力学試験結果(表2)を最終ページに記す。

変形性股関節症症例と比べると、ステロイド骨症群では、骨梁幅はやや小さいが連結性は良好であった。強度に関しては、変形性股関節症症例群の方がステロイド骨症群に比

べて顕著に高値であった。

高齢である骨折群と比較すると、若年であるステロイド骨の症例では、骨梁構造は良好であるが、骨強度は相対的に低いと考えられた。

そこで、大腿骨頸部骨折群との比較において、年齢の影響を排除するために、骨強度に最も相関すると考えられる骨量(BV/TV)で補正した強度を算出した。結果として、最大応力(骨量で除する)は、頸部骨折群で 0.34 ± 0.12 、変形性股関節症群で 0.48 ± 0.12 、ステロイド骨症群で 0.37 ± 0.16 であり、最大圧縮荷重(骨量で除する)は、それぞれ 3.51 ± 1.24 、 4.15 ± 2.33 、 1.20 ± 0.45 であった。以上よりステロイド骨症における骨脆弱性の原因として、骨量以外の要素、つまり材質の変化が示唆され、結果1)2)がステロイド骨症での骨力学特性における骨脆弱性の本態の一因であることを支持すると考えられた。

4) 動物実験結果

マイクロCTによる骨量はほとんど変化ないものの、骨形態計測法によって、骨吸収の低下と骨形成の著明な抑制が認められ、ステロイド骨粗鬆症の患者で見られる骨代謝異常が再現された。

5)HA配向性、マイクロダメージに関しては、解析途中である。

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4件)

伊東昌子、ステロイド性骨粗鬆症の骨量・骨質と骨力学特性、リウマチ科、査読なし、38巻、2007年、53-58

Hiroshi Mori, Masako Ito, et al. Minodronic acid (ONO-5920/YM529) prevents decrease in bone mineral density and bone strength, and improves bone microarchitecture in ovariectomized cynomolgus monkeys. Bone 査読あり 43, 840-848

Asaba Y, Ito M, et al. Activation of renin-angiotensin system induces osteoporosis independently of hypertension. J Bone Mineral Reseach 査読有り 24, 241-245

Kiyo-aki Ishii, Masako Ito, et al. Coordination of PGC-1 β and iron uptake in mitochondrial biogenesis and osteoclast activation Nature Medicine 査読有り (online).

〔学会発表〕(計 3 件)

Masako Ito, Hip geometry and bone density in Japanese women in relation to fragility fracture The 18th International Bone Densitometry Workshop. 2008.6.18. Pugnuchiuso, Italy,

伊東昌子、ステロイド骨症における骨質、第21回先進リウマチ医学研究会、2008.6.10, 東京

伊東昌子、ステロイド骨症における骨量、骨質、骨力学特性。第37回九州リウマチ学会、2009.3.14、長崎

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

伊東昌子 時代は骨質の評価へ Medical Tribune 2007年10月18日 掲載

伊東昌子 骨強度には骨密度だけでなく骨質も反映 Medical Tribune 2007年9月27日 掲載

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊東昌子 (ITO MASAKO)
長崎大学医学部・歯学部附属病院・准教授
研究者番号 10193517

(2) 研究分担者

上谷雅孝 (UETANI MASATAKA)
長崎大学医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号 40176582

(3) 連携研究者

池田恭治 (IKEDA KYOUJI)
国立長寿医療センター 運動器疾患研究部・部長
研究者番号 00222878

森諭史 (MORI SATOSHI)
聖霊浜松病院整形外科・部長
研究者番号 00190992

網塚憲生 (AMIZUKA NORIO)
新潟大学学内共同利用施設・教授
研究者番号 30242431

中野貴由 (NAKANO TAKAYOSHI)
大阪大学工学研究科・教授
研究者番号 30243182

真柴 賛 (MASHIBA TASUKU)
香川大学・講師
研究者番号 40335857

表1

群	BV/TV	Tb.Th	Tb.N	Tb.Sp	Fractal D	Euler's number	SMI	TSL
頸部骨折群	22.2±5.5	138.9±17.1	1.58±0.27	513.1±133.9	2.24±0.04	-311.7±105.2	0.49±0.17	740.9±124.9
股関節OA群	29.4±2.9	164.7±15.1	1.79±0.14	396.6±41.1	2.24±0.06	-362.5±80.8	0.61±0.60	835.0±127.5
ステロイド骨症群	31.0±7.6	155.2±24.6	2.01±0.45	365.0±120.7	2.23±0.09	-687.3±527.8	0.71±0.34	1052.4±554.5

表2

群	最大圧縮荷重(kgf)	最大圧縮応力(MPa)	弾性率(GPa)
頸部骨折群	78.08±32.11	7.66±3.15	0.75±0.31
股関節OA群	124.54±69.91	14.03±3.62	1.28±0.19
ステロイド骨症群	39.17±19.76	11.60±5.93	1.09±0.67