

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H07057

研究課題名(和文)血管攣縮の観点から行う大腿骨頭壊死症の病態解析と予防法の確立

研究課題名(英文)The role of vasospasm on the development of osteonecrosis of the femoral head

研究代表者

池村 聡 (Satoshi, Ikemura)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：20781933

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：大腿骨頭壊死症は早期から滑膜炎を呈することに着目し、造影MRIで評価した滑膜炎の程度と術中に採取したサイトカイン濃度の相関を検討した結果、血管系のサイトカインではIL-8が、骨代謝マーカーではTRACP5bが、滑膜炎の程度と有意な正の相関を認め、早期の病態にはIL-8が、病期進行にはTRACP5bが関与していることが示唆された。骨壊死類似疾患に関しては、大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折の中でも高度圧潰症例のIL-8、TRACP-5b、VEGF、MMP-9が、軽度圧潰症例と比して有意に高値であることが分かり、股関節液を調査することが大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折の病態解明につながる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study investigated the correlation between the degree of synovitis of the hip joint and expression of cytokine or bone metabolism marker in fluid of the hip joint, including TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-8, MMP-3, MMP-9, BAP and TRACP5b in patients with osteonecrosis of the femoral head. There were significant correlation between the degree of the synovitis and the expression of IL-8 or TRACP5b, which indicate that synovitis plays an important role on the vascularization or bone resorption in patients with osteonecrosis of the femoral head. Regarding the subchondral insufficiency fracture of the femoral head similar to osteonecrosis of the femoral head, the levels of expression of IL-8, TRACP-5b, VEGF, MMP-9 in cases with progressive collapse were significantly higher than those in cases without progressive collapse, which indicate that increased osteoclast activity may be result of progressive collapse in subchondral insufficiency fracture of the femoral head.

研究分野：股関節、大腿骨頭壊死症

キーワード：大腿骨頭壊死症 大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折 急速破壊型股関節症 関節液 サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

1) 大腿骨頭壊死症は厚生労働省難治性疾患に指定されている。股関節機能が障害され歩行不能となる骨関節疾患における難病の1つである。現在も増加傾向にあり、国内だけで年間 2500 人ものが患者が発症している状況にある。大腿骨頭壊死症の関連因子と考えられているステロイド関連大腿骨頭壊死症の割合は全体の 50%を占めるに至っており、10代の若年にも好発し、壊死により大腿骨頭の圧潰を来せば外科的治療が必要となる。主な外科的治療法の1つに人工関節置換術があるが、若年例では、将来的な再置換、再々置換術が必要となる場合がある。従って、ステロイド治療を受けざるをえない患者に対して骨壊死の病因解明と、それに基づく予防は長年の重要な課題である。これまでの基礎研究から骨壊死発生に凝固異常、脂質代謝異常、酸化ストレスなど多面的な作用により虚血に至り発生すると考えられているが、詳細なメカニズムは不明である。我々は、先行研究において、血管攣縮予防薬を家兎骨壊死モデルに投与し、骨壊死発生率の抑制効果を確認し、血管攣縮が大腿骨頭壊死症の病態に関与していることが示唆された。

2) 大腿骨頭壊死症は骨頭圧潰を呈する代表的な疾患であるが、大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折、急速破壊型股関節症も同様の経過を辿る場合がある。超高齢化社会を迎え、骨脆弱性を基盤として起こりえる、大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折、急速破壊型股関節症との病態解明と、画像上多くの類似点を有する大腿骨頭壊死症との鑑別は临床上、重要である。

2. 研究の目的

1) これまでに大腿骨頭壊死症における関節液を調査した報告が散見され、サイトカインレベルと骨壊死の病期との関連が示唆されている。しかし、関節液中の血管攣縮に関連するサイトカインレベルの検討はなされていない。また、大腿骨頭壊死症は早期から滑膜炎を併発するが、滑膜炎の程度とサイトカイン濃度との関連についての報告もない。炎症性サイトカインは滑膜細胞を介して産生され、骨に作用することは知られており、我々は滑膜炎の程度とサイトカイン濃度の関連性について検討した。

2) 大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折および急速破壊型股関節症患者の関節液中サイトカインおよび骨代謝マーカーを定量解析し、生化学的な側面から両疾患の病態を検討した。また、大腿骨頭壊死症との鑑別を目的とし、大腿骨頭壊死症患者のサイトカインレベルと比較検討を行った。

3. 研究の方法

1) 対象は特発性大腿骨頭壊死症に対して術前に造影 MRI を施行し、関節温存手術中に関節液採取が可能であった 24 人 28 股関節 (男性 20 股、女性 8 股)、手術時平均年齢 40.0

歳、関連因子はアルコールが 14 股、ステロイドが 14 股、術前病期分類は圧潰 3mm 未満の 3A が 21 股、3mm 以上の 3B が 7 股、病型分類は、臼蓋外側縁内の C1 が 9 股、外側縁を超える C2 が 19 股であった。術前の造影 MRI では coronal 像における大腿骨頭頸部の内外側、axial 像における大腿骨頭頸部の前側、後側での滑膜厚を測定し、その最大値を滑膜厚とした (図 1)。滑膜炎の Grade は過去の報告に基づいて 0 から 3 の 4 段階で判定し、Grade 0~1 (A 群) と 2~3 (B 群) の 2 群に分けた。関節液の測定項目としては炎症マーカーとして、血管攣縮との関連のあるサイトカインである、IL-1、IL-6、IL-8、TNF- α を ELISA 法で測定、MMP-3、MMP-9 も測定した。また、骨代謝マーカーとして BAP、TRACP5b を測定し、滑膜厚との関連を比較した。(倫理審査承認番号: 27-412)

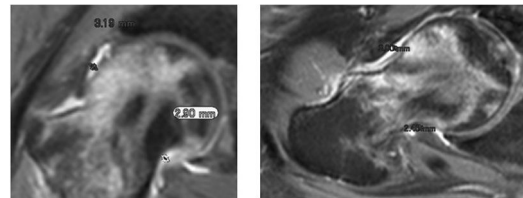


図 1. 滑膜厚測定。冠状断(左)および水平断(右)の各中央スライスで評価

2) 大腿骨頭壊死症およびその類似疾患である大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折、急速破壊型股関節症の股関節液を調査した。大腿骨頭壊死症においては関節温存手術を行った骨頭圧潰が比較的軽度である症例で検討した。調査項目として、炎症性サイトカインである TNF- α 、IL-1、IL-6、急速破壊型股関節症に特異的に上昇すると報告されている IL-8、血管内皮細胞増殖因子であり破骨細胞との関連性も指摘されている VEGF をフローサイトメトリー-CBA; BD Biosciences, Tokyo, Japan を用いて定量評価を行い、骨代謝マーカーである BAP、TRACP-5b、MMP-9 を ELISA 法により定量評価した。また、大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折症例の中でも、骨頭圧潰の程度が大きい症例とわずかな症例間でのサイトカイン、骨代謝マーカーの比較検討を行った。さらに、大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折および急速破壊型股関節症の HE 染色骨頭標本を用いて軟骨下骨領域の骨梁周囲の多核巨細胞数を計測した (図 2)。(倫理審査承認番号: 27-412)

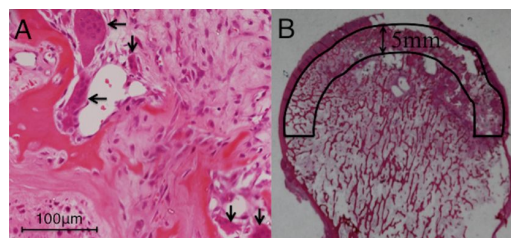


図 2 A. 摘出骨頭軟骨下領域の HE 染色像。骨梁に沿った多核巨細胞 (矢印)。B. 多核

巨細胞数は骨頭関節面から 5mm 遠位までの軟骨下領域で測定

4. 研究成果

1) MRI での滑膜厚は A 群が 9 股、B 群が 19 股であった。サイトカイン濃度の比較については IL-1、IL-6、IL-8、TNF-、MMP-3、MMP-9、BAP、MMP-3、MMP-9 で 2 群に有意差はなく、TRACP5b のみ B 群が有意に高かった(表 1)。2 群間の比較では、滑膜厚とサイトカイン濃度の関連は乏しく、関節液中のサイトカイン濃度が股関節滑膜炎の程度を反映しているかは不明であり、さらなる症例の蓄積が必要であると考えられた。一方、滑膜厚の実測値とサイトカインレベルの相関関係を検討したところ、滑膜厚は平均 4.56 mm(1.32 ~ 7.29)であり、IL-1、IL-6、TNF-、MMP-3、MMP-9、BAP には相関を認めなかったものの、滑膜炎とサイトカインレベルとの相関は IL-8 ($r = 0.40, p = 0.037$)、TRACP5b ($r = 0.61, p = 0.0007$) に認めた(図 3)。滑膜炎は大腿骨頭壊死症の早期から認められることから、滑膜炎の程度と IL-8 発現レベルが有意な正の相関を示した、という本研究結果は大腿骨頭壊死症の病態解明に有用な手掛かりになることが示唆された。

	A 群 (n=9)	B 群 (n=19)	P 値
性別(F:M)	3:6	5:14	1.00
alcohol:steroid	3:6	11:8	0.42
発症から手術	6(2-25)	6(2-23)	0.72
Stage (3A:3B)	7:2	14:5	1.00
Type	3:6	6:13	1.00
手術時年齢	41(25-51)	41(17-55)	0.74
IL-1	4.84	5.01	0.31
IL-6	157.56	913.69	0.94
IL-8	27.89	46.07	0.31
TNF-	9.68	6.31	0.10
BAP	426.64	325.91	1.00
MMP-3	29.17	31.99	0.66
MMP-9	18.99	7.28	0.66
TRACP-5b	0.33	0.75	0.034
術後圧潰	3/9	8/17	0.68

表 1

変数	vs. 変数	Spearmanの順位相関係数(ρ)	p値(Prob> ρ)
synovitis	IL-6 (pg/ml)	0.0336	0.8679
synovitis	IL-1 β (pg/ml)	0.0549	0.7855
synovitis	MMP-3	0.0965	0.6321
synovitis	TNF (pg/ml)	0.1218	0.5450
synovitis	BAP (ng/ml)	0.1762	0.3996
synovitis	MMP-9(ng/ml)	0.1983	0.3529
synovitis	IL-8 (pg/ml)	0.4029	0.0372*
synovitis	TRACP5b	0.6097	0.0007*

図 3 . 滑膜炎とサイトカインレベルとの相関

2) IL-8, TRACP-5b, VEGF, MMP-9 が大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折の一部で急速破壊型股関節症と同様に高値を示していた(図 4)。これらの 4 項目のマーカー上昇から、大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折の病態に急速破壊型股関節症と同様に破骨細胞活性が関与している可能性が考えられた。大腿骨頭軟骨下脆弱

性骨折の中でも、骨頭圧潰の程度が大きい症例の IL-8, TRACP-5b, VEGF, MMP-9 は、骨頭圧潰がわずかな症例に比し有意に高値であった(図 4)。また、多核巨細胞数を計測した結果、骨頭圧潰が高度な大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折および急速破壊型股関節症で有意に高値を示しており、破骨細胞活性が高値であることを確認した(図 5 A)。更に、骨梁周囲の多核巨細胞数は関節液中の破骨細胞活性の指標である TRACP-5b と有意な相関を示しており、股関節液中の破骨細胞関連因子は疾患の破骨細胞活性を反映していると考えられ(図 5 B)。今後の展望として股関節液を調査することが股関節疾患の病態解明につながる可能性が示唆された。

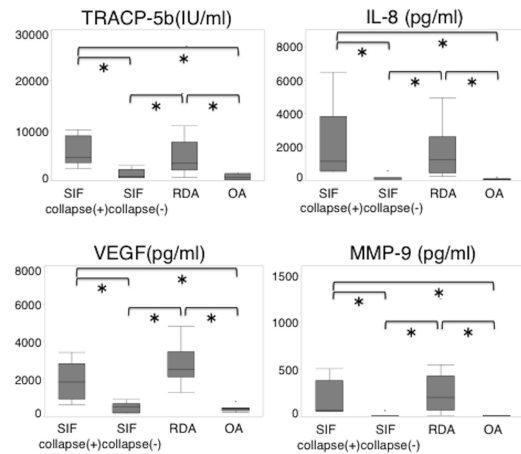


図 4 . TRACP-5b、IL-8、VEGF、MMP-9 濃度 SIF; 大腿骨頭軟骨下脆弱性骨折、RDA; 急速破壊型股関節症、OA; 変形性股関節症、collapse(+); 高度圧潰、collapse(-); 軽度圧潰

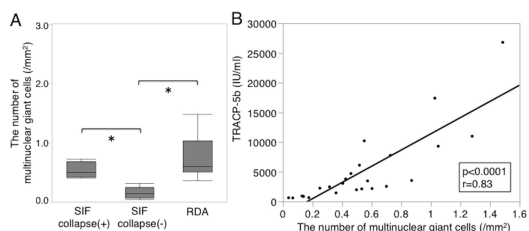


図 5 A . 軟骨下領域多核巨細胞数。B . 多核巨細胞数と TRACP-5b の相関関係

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 1 件)

Kubo Y, Motomura G, Ikemura S, Hatanaka H, Fukushi J, Hamai S, Yamamoto T, Nakashima Y. Osteoclast-related markers in the hip joint fluid with subchondral insufficiency fracture of the femoral head. J Orthop Res. 2018 Jun 7. doi:

10.1002/jor.24066. [Epub ahead of print]

〔学会発表〕(計3件)

Kubo Y, Motomura G, Ikemura S, Hatanaka H, Utsunomiya T, Baba S, Kawano K, Yamamoto T, Nakashima Y. Bone resorption markers in the synovial fluid of the hip joint with subchondral insufficiency fracture of the femoral head: A comparison with rapidly destructive arthrosis of the hip joint. The 64th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (March 10-13, 2018, New Orleans, LA, USA)

Hatanaka H, Motomura G, Ikemura S, Kubo Y, Utsunomiya T, Baba S, Kawano K, Nakashima Y. Quantitative analyses of hip synovitis using contrast enhanced MRI in patients with nontraumatic osteonecrosis of the femoral head. The 64th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (March 10-13, 2018, New Orleans, LA, USA)

Ikemura S, Utsunomiya T, Motomura G, Fukushi J, Hamai S, Yamamoto T, Nakashima Y. The utility of contrast-enhanced MR imaging for precise assessment of necrotic area in patients with osteonecrosis of the femoral head. The 63th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (March 19-22, 2017, San Diego, CA, USA)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者

池村 聡 (IKEMURA, Satoshi)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：20781933

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：

(4) 研究協力者
()