

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861330

研究課題名(和文) エンドソーム機能制御を用いた大腿骨頭壊死症の発生機序解明

研究課題名(英文) Elucidation of pathogenesis of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head using the endosome function control

研究代表者

岡崎 俊一郎 (OKAZAKI, SHUNICHIRO)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：70404647

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：特発性大腿骨頭壊死症に対する有効な予防法は確立されておらず、その確立は急務である。そのため、我々が確立した特発性大腿骨頭壊死症動物モデルを用いて市販後薬剤であるランソプラゾールの特発性大腿骨頭壊死症に対する予防効果を検討した。その結果、ランソプラゾールはステロイド性大腿骨頭壊死症を予防することが明らかとなり、臨床試験を実施した。ランソプラゾールはアルコール性大腿骨頭壊死症を予防することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Effective prevention strategy for osteonecrosis of the femoral head (ONFH) was not established. In the present study, we hypothesized that lansoprazole has a potent to suppress IRF7 activity through the inhibition of endosome function, and that lansoprazole could prevent ONFH in rats and in patients with immune diseases treated with corticosteroid. As a result, co-treatment of lansoprazole with corticosteroid significantly repressed IRF7 activity in rats, and significantly prevented developing ONFH in rats. And, the incidence of ONFH in the lansoprazole treated group was significantly lower from that in the Alcohol group. As described above, we observed that lansoprazole has a potent to prevent developing ONFH in rats. Thus, we conducted a preliminary clinical trail.

研究分野：整形外科学

キーワード：関節病学

1. 研究開始当初の背景

特発性大腿骨頭壊死症は、大腿骨頭の無腐性、虚血性壊死によって関節荷重部に圧潰を生じ、2 次的に変形性関節症をきたす疾患であるが、その発生機序は未だに不明であり、厚生労働省の難治性特定疾患に指定されている。

特発性大腿骨頭壊死症の発生の背景因子についてはいろいろと明らかにされてきており、大きくステロイド性、アルコール性、および狭義の特発性に分類されている。ステロイド性大腿骨頭壊死症は自己免疫疾患などの炎症性疾患など、その治療にステロイド剤を使用する内科疾患に多く認められている。

われわれはそれらの疾患の病態に広く関与する自然免疫機構を介した炎症系が特発性大腿骨頭壊死症の発生に関与しているのではないかと着目し、2009 年に toll-like receptor (TLR) 4 のリガンドである lipopolysaccharide(LPS) 投与による炎症を基盤としたステロイド誘発大腿骨頭壊死症ラットモデルを世界で初めて作成するのに成功し報告した。また、このことから、TLR7 もしくは TLR9 のリガンド及びステロイド投与によっても大腿骨頭壊死が発生することをラットにおいて確認した。これらのモデルを解析した結果、TLR を介して NF- κ B および IRF7 が活性化したのちにステロイド剤の投与によって NF- κ B の活性だけが減弱することによりステロイド性大腿骨頭壊死症が発生することを確認した。さらに、ステロイド投与と同時に IRF7 inhibitor を投与し IRF7 活性を NF- κ B と同時に減弱化することによって大腿骨頭壊

死が発生しないことを明らかとしてきた。

一方、アルコール性大腿骨頭壊死症はアルコール多量摂取者に発生の報告が多い。アルコール多量飲酒者ではアルコール性肝炎の発生を多く認め、その機序は腸管透過性の亢進により TLR4 のリガンドの一つである lipopolysaccharide の血中濃度が上昇し発生するとされている。このことから、アルコール含有液体飼料を用いたアルコール性大腿骨頭壊死症ラットモデルを確立している。

2. 研究の目的

本研究では、我々が確立した特発性大腿骨頭壊死症ラットモデルを用い大腿骨頭壊死症の発生予防法確立を目指す。先に報告した Ikk inhibitor である BAY11-7082 を用いた研究では、IRF7 活性の減弱化が大腿骨頭壊死の発生予防の重要な要素であることが明らかとなったが、BAY11-7082 投与群では高頻度で死亡例が発生した。BAY11-7082 の安全性は担保されておらず、臨床応用は困難である。そこで、安全性の担保された市販後薬剤の中で BAY11-7082 と同様の IRF7 抑制効果を持つ薬剤を検討し特発性大腿骨頭壊死症の予防効果を検討する。また、ステロイド治療を必要とする患者へのステロイド性大腿骨頭壊死症の発生予防に関する臨床試験を実施することを目的とする。さらに、大腿骨頭壊死に至る機構として、特発性大腿骨頭壊死症の発生に関与が疑われる Toll-like receptor 4 signaling pathway を中心とした酸化ストレスの関与を明らかにし、発生メカニズムを検討する。

3. 研究の方法

先に報告した BAY11-7082 と同様に IRF7 阻害作用を持つ市販後薬剤として、ランソプラゾールが候補となった。TLR4,7 が発現するエンドソームはプロトンポンプにより酸性環境を維持し機能していることから、TLR signaling 阻害効果が期待出来る。また、ランソプラゾールには、機序は明らかとなっていないが NF- κ B 阻害効果が報告されている。以上のことから、ランソプラゾールに IRF7 阻害効果及び特発性大腿骨頭壊死症の予防効果があると仮説を立て以下の実験をおこなった。

1) ランソプラゾールのステロイド性大腿骨頭壊死症の発生予防効果

Wistar 系雄性ラットを 4 群に分け、既報に従い 24 時間間隔で以下の薬剤をそれぞれ単回投与した。LPS + メチルプレドニゾン、LPS + ランソプラゾール + メチルプレドニゾン、イミキモド + メチルプレドニゾン、イミキモド + ランソプラゾール + メチルプレドニゾン。最終薬剤投与後 1 もしくは 14 日後に屠殺し、肝臓および大腿骨を採取した。14 日群では固定・脱灰後に組織染色を行い、大腿骨頭壊死の発生頻度の比較を行った。1 日群では既報と同様に肝臓での転写制御因子活性を測定した。

2) ランソプラゾールのアルコール性大腿骨頭壊死症の発生予防効果

Wistar 系雄性ラットを 5%アルコール群および予防群に分け、アルコール性肝障害を誘発する Lieber liquid diet 法に従い pair fed feeding を行った。アルコール群では 5%アルコール liquid diet 投与を 1 週お

こない、通常餌に変更後 3 週で屠殺した。予防群ではアルコール群と同一の液体飼料にランソプラゾールを混入した。大腿骨を採取し、組織染色を行った。

3) ステロイド性大腿骨頭壊死症ラットモデルにおける酸化ストレス

Wistar 系雄性ラットを 4 群に分け、既報に従い 24 時間間隔で以下の薬剤をそれぞれ単回投与した。生理食塩水 + 生理食塩水、生理食塩水 + メチルプレドニゾン、LPS + 生理食塩水、LPS + メチルプレドニゾン。最終薬剤投与後 1 もしくは 14 日後に屠殺し、肝臓および大腿骨を採取した。14 日群では固定・脱灰後に組織染色を行い、大腿骨頭壊死の発生頻度の比較を行った。1 日群では肝臓および大腿骨頭ならびに大腿骨骨幹部でのグルタチオンペルオキシダーゼ活性を測定した。

4. 研究成果

1) ランソプラゾールのステロイド性大腿骨頭壊死症の発生予防効果

ランソプラゾールによる転写制御因子活性の変動は、LPS + ランソプラゾール + メチルプレドニゾン、イミキモド + ランソプラゾール + メチルプレドニゾン群では IRF7 の活性は LPS + メチルプレドニゾン、イミキモド + メチルプレドニゾン群と比較し 1 日目において有意に減弱化していた。この結果、ランソプラゾールに IRF7 阻害作用があることが明らかとなった。一方、14 日群での大腿骨頭壊死の発生は、LPS + メチルプレドニゾン、イミキモド + メチルプレドニゾン群では 23 匹中 11 匹に認められたが、LPS + ランソプラゾール +

メチルプレドニゾロン、イミキモド+ランソプラゾール+メチルプレドニゾロン群では大腿骨頭壊死の発生を認めず(24匹中0匹)、ランソプラゾールにステロイド性大腿骨頭壊死症予防効果があることが明らかとなった。以上の結果から、札幌医科大学附属病院倫理審査委員会より承認を得て、ステロイド療法を要する免疫疾患患者を対象にランソプラゾールの特発性大腿骨頭壊死症予防効果に関する臨床試験を開始した。これらの結果を現在、論文投稿中である。

2) ランソプラゾールのアルコール性大腿骨頭壊死症の発生予防効果

5%アルコール含有液体飼料にランソプラゾールを混入した結果、ランソプラゾール投与群では大腿骨頭壊死の発生を24匹中4匹に認めた。一方、5%アルコール投与群では24匹中12匹に大腿骨頭壊死の発生を認め、ランソプラゾールによって有意にアルコール性大腿骨頭壊死症が予防されることが明らかとなった。これらの結果を現在、論文投稿中である。

3) ステロイド性大腿骨頭壊死症ラットモデルにおける酸化ストレス

大腿骨頭壊死の発生はLPS+生理食塩水群で10匹中1匹、LPS+メチルプレドニゾロン群で10匹中5匹に認めたが、生理食塩水+生理食塩水、生理食塩水+メチルプレドニゾロン群ではその発生を認めなかった(それぞれ10匹中0匹)。肝臓でのグルタチオンペルオキシダーゼ活性はLPS+生理食塩水群で他群と比べ有意に上昇していたが、LPS+メチルプレドニゾロ

ン群では有意に減少していた。また、大腿骨頭及び大腿骨骨幹部ではグルタチオンペルオキシダーゼ活性の有意な変動を認めなかった。この結果から、ステロイド剤は抗酸化作用に働き、ステロイド性大腿骨頭壊死症の発生に酸化ストレスの関与は低いと推察された。現在、論文投稿中である。

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 0件)

[学会発表](計 5件)

Shunichiro Okazaki, Satoshi Nagoya, Junya Shimizu, Keisuke Mizuo, Mikito Sasaki, Satoshi Watanabe, Toshihiko Yamashita, Hiromasa Inoue.

Lansoprazole prevents developing corticosteroid-induced osteonecrosis of the femoral head through the repression of IRF7 activity. European Federation National Associations of Orthopedics and Traumatology Congress 16th EFFORT Congress 2015.

2015.05.29. Prague (Czech Republic).

岡崎俊一郎、名越智、清水淳也、高橋信行、水尾圭祐、佐々木幹人、山下敏彦、井上裕匡。特発性大腿骨頭壊死症の発生予防法の検討。

第88回日本整形外科学会総会

2015.05.21. 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)

岡崎俊一郎、名越智、清水淳也、佐々木幹

人、水尾圭祐、渡邊智、井上裕匡、山下敏彦。ステロイド性大腿骨頭壊死症ラットモデルにおけるグルタチオンペルオキシダーゼ活性。第63回東日本整形災害外科学会。2014.09.19.京王プラザホテル(東京都・新宿区)

岡崎俊一郎、名越智、舘田健児、加谷光規、佐々木幹人、小助川維摩、大西史師、山下敏彦。ステロイド性大腿骨頭壊死症ラットモデルにおけるグルタチオンペルオキシダーゼ活性。第127回北海道整形災害外科学会 2014.06.14.大雪クリスタルホール(北海道・旭川市)

Shunichiro Okazaki, Satoshi Nagoya, Kenji Tateda, Mitsunori Kaya, Mikito Sasaki, Ima Kosukegawa, Toshihiko Yamashita.

Oxidative stress in the corticosteroid-induced osteonecrosis of the femoral head rat model. Orthopaedic Research Society 2014 Annual Meeting. 2014.03.15-18. New Orleans (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:

出願年月日:

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

岡崎 俊一郎 (OKAZAKI SHUNICHIRO)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号: 70404647

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: