

# 高血圧自然発症ラットにおける大腿骨頭壊死

## ——その発症に対する内分泌機能異常の関与——

報告者：長崎大学医学部整形外科教室

平野 徹、岩崎 勝郎、大坪 義昌

### はじめに

高血圧自然発症ラット（SHR）は、人間の本態性高血圧の最適な実験動物モデルとして、その病態解明などの研究に世界中で用いられている。SHRは、心血管系や自律神経系の異常だけではなく、脳下垂体、甲状腺、副腎、性腺などの内分泌機能異常やカルシウム代謝異常なども伴うことが明らかにされている。

我々は、このSHRの大腿骨頭に無腐性壊死や骨化遅延が高頻度に発生していることを発見した（図1）。

これら大腿骨頭病変のうち骨頭壊死は、成長期（生後7週から15週）の骨端核に選択的に起きるなど、人間のベルテス病と幾つかの類似点を有している。

ラットの大腿骨頭の栄養は、大部分がlateral epiphyseal vesselsを介して行われている。この血管は、大腿骨頸部の外側から関節軟骨と成長軟骨帯の間を貫通して骨端へ侵入する（図2）。

骨頭壊死のほとんどは、血管が貫通部で閉塞することに起因する。そして、大腿骨頭病変を起こしたものの貫通部周囲の軟骨

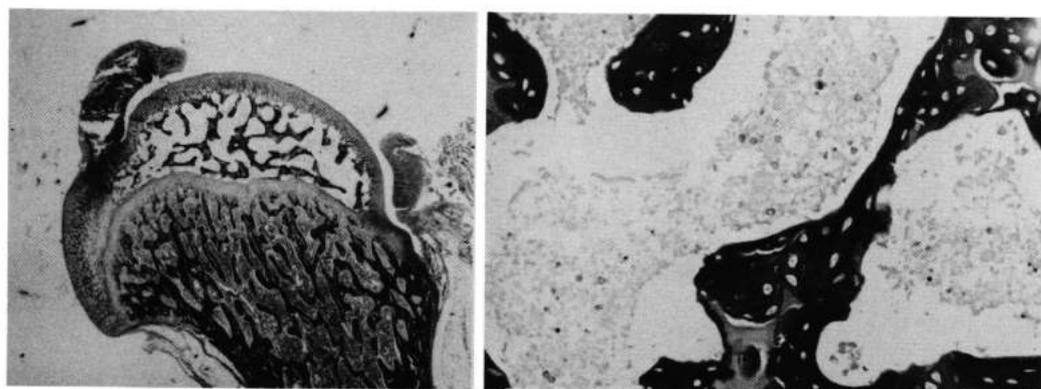


図1 SHRの大腿骨頭壊死。左：骨端核だけが壊死に陥っている。HE, x18。  
右：骨梁内の骨細胞および骨髄組織は、完全に壊死化している。HE, x200。

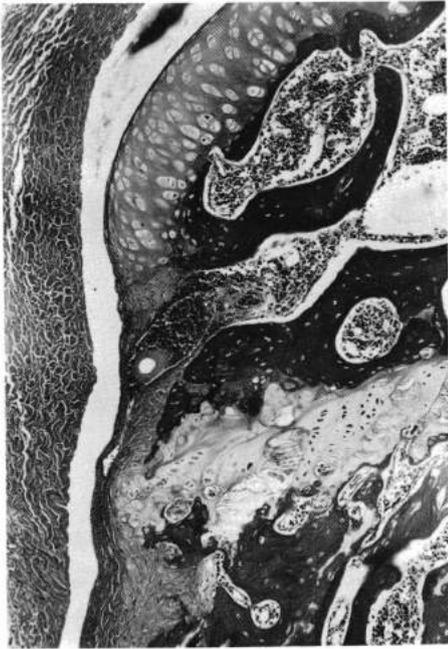


図2 Lateral epiphyseal vesselsは、骨頭外側から骨端核内へ貫通している。HE, x100。

組織には、関節軟骨や成長軟骨帯の陥没および軟骨細胞の結節性増生などの異常所見がしばしば認められる。このことから、骨頭軟骨の異常がlateral epiphyseal vesselsの閉塞に深く関与していると考えられている(図3)。

成長期の軟骨代謝には、さまざまなホルモンが深くかかわっている。先に述べたように、SHRでは系統的な内分泌機能異常の存在が指摘されている。そしてSHRの骨頭壊死では、発生頻度に雌雄差があり雄に好発するなど、性腺ないし性ホルモンの異常が深く関係していることを示唆している。そこで本研究は、SHRにおける骨頭壊死発生と内分泌機能なかでも性腺機能異常との関係を明らかにする目的で行った。

#### 材料および方法

生後6週の雄SHRおよび雌SHRと、対照として同週齢のウイスター京都ラット

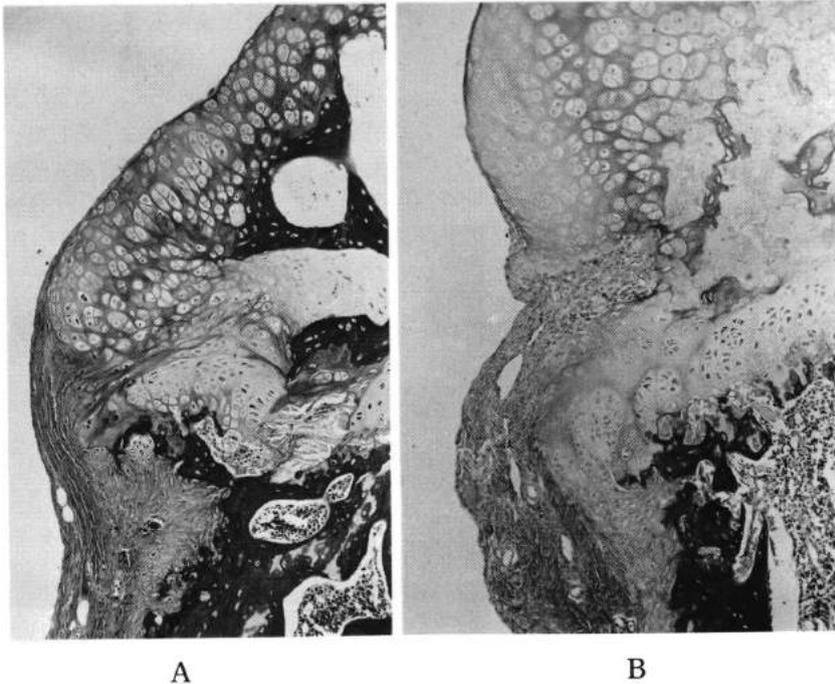


図3 骨頭壊死では、成長軟骨帯の外側部に限局した陥没(左)や軟骨細胞の結節性増生(右)を認める。HE, x100。

(WKR)の雄雌を用いて、以下の実験群を作製した。各実験群はSHR、WKRともそれぞれ10匹ずつとした。

- ① 雄無処置群
- ② 睾丸摘出群
- ③ 睾丸摘出+男性ホルモン投与群
- ④ 雌無処置群
- ⑤ 卵巢摘出群
- ⑥ 卵巢摘出+男性ホルモン投与群

②、③、⑤および⑥群の外科的処置はいずれもエーテル麻酔下に無菌的に行った。

③および⑥の男性ホルモン投与群には、エナント酸テストステロンを体重100g当たり2mgを背部に週1回筋注した。そして生後15週目にエーテル麻酔下に屠殺し、両側大腿骨を摘出した。

組織学的検索のため、摘出標本は10%ホルマリンで固定後脱灰し、円靭帯を含む骨頭前額面のHE染色切片を作製した。各群20標本を用いて、それぞれの群における骨頭壊死と骨化遅延の出現頻度、さらに骨頭成長軟骨帯における異常所見の出現頻度を調べた。

## 結果

骨頭壊死の発生数は、①、③、⑤および⑥群でSHRが12、6、8および9骨頭と高頻度であったのに対して、WKRでは3、2、3および3骨頭であり、両者の間に差が認められた(表1)。

②および④群ではSHRとWKRの間にはほとんど差はなかった。骨頭壊死と骨化遅延を含めた大腿骨頭病変の発生数は、①、③、⑤および⑥群でSHRが18、16、9、10骨頭であったのに対して、WKRでは4、2、3および4骨頭と、両者間の差はさらに大きくなった。(表2)。

成長軟骨帯の異常所見は、骨頭外側部で起きていた。その発生数は、①、③および⑥がSHRで11、8および4骨頭と、WKRの1、1および0骨頭に比べて高頻度であった。(表3)。

表1 各実験群における壊死骨頭数 (n=20)

実験群	雄SHR	雄WKR	雌SHR	雌WKR
① 無処置群	12	3		
② 睾丸摘出群	4	3		
③ 睾丸摘出+ 男性ホルモン群	6	2		
④ 無処置群			2	2
⑤ 卵巢摘出群			8	3
⑥ 卵巢摘出+ 女性ホルモン群			9	8

表2 各実験群における大腿骨頭病変を有する骨頭数 (n=20)

実験群	雄SHR	雄WKR	雌SHR	雌WKR
① 無処置群	18	4		
② 辜丸摘出群	5	3		
③ 辜丸摘出+	16	2		
男性ホルモン群				
④ 無処置群			6	3
⑤ 卵巣摘出群			9	3
⑥ 卵巣摘出+			10	4
女性ホルモン群				

表3 各実験群における成長軟骨帯異常を示す骨頭数 (n=20)

実験群	雄SHR	雄WKR	雌SHR	雌WKR
① 無処置群	11	1		
② 辜丸摘出群	1	0		
③ 辜丸摘出+	8	1		
男性ホルモン群				
④ 無処置群			1	0
⑤ 卵巣摘出群			2	0
⑥ 卵巣摘出+			4	0
女性ホルモン群				

## 考 察

SHRの大腿骨頭病変の発生頻度には著しい雌雄差がみられ、雄SHRに好発していた。逆に雌SHRの発生頻度は、対照のWKRと同様に低かった。このことは、その発生に性腺機能が強く影響していることを示唆している。そこで、まず雄SHRの睾丸摘出を行い性腺の影響を取り除く実験を行った。その結果、発生頻度は雌SHRあるいはWKRと同程度となった。さらに、この変化が男性ホルモンによることを確認するため、睾丸を摘出したSHRにテストステロンを投与したところその発生頻度の増加がみられた。ことから、雄SHRに好発する理由として、男性ホルモンの影響の大きいことが示唆された。

逆に、雌SHRにおける大腿骨頭病変の発生頻度の低いことにも、性腺が関与しているのではないかと考えられる。そこで、卵巣を摘出する実験も追加した。この卵巣を摘出したSHRは、睾丸を摘出したものと性的に同じ状態になっていると考えられるが、実際には前者のみが著しい増加を示した。生体では雄、雌とも、程度の差はあれ男性ホルモンと女性ホルモン両者が分泌され、バランスが保たれている。卵巣摘出したSHRでは、性腺以外の副腎皮質などから分泌されている男性ホルモンが優位となり発生頻度が増加したと推察された。卵巣を摘出したSHRにテストステロンを投与しても、さほど発生頻度が増加しなかったことが、このことを裏付けているであろう。そして、大腿骨頭病変が高頻度に発生した実験群では、骨頭の成長軟骨帯外部に軟骨組織が障害をうけた所見が起きており、それは大腿骨頭病変のそれに密接にかかわっていることが分かった。

しかし、WKRでは、SHRと同じ実験を行ったにもかかわらず、その発生頻度の変化はほとんど無く、また骨頭の成長軟骨帯の障害も軽度であった。このことから、

SHRとWKRの間には、軟骨代謝に対する性ホルモンの作用に差があり、そのためSHRでは軟骨組織の脆弱性を来し、本結果をもたらしたと考えた。SHRの骨頭壊死は、ベルテス病の骨頭壊死と類似点を有しており、その実験モデルと考えられている。ベルテス病でも発生頻度に性差があり、男児に好発する。このことは、ベルテス病でもSHRと同様に内分泌機能に潜在的異常が存在することを示唆しているであろう。

本研究のほとんどは、財団法人・日本股関節研究財団の平成2年度研究助成金によって行いました。ここに厚く感謝申し上げます。

## 参考文献

- Hirano T, et al.: Osteonecrosis of the femoral head of growing, spontaneously hypertensive rats. *Acta Orthop Scand* 59:530, 1988.
- Hirano T, et al.: Necrosis of the femoral head in growing rats: Occlusion of lateral epiphyseal vessels. *Acta Orthop Scand* 60:407, 1989.
- Iwasaki K, et al.: Osteonecrosis and ossification disturbance of the femoral head in spontaneously hypertensive rats. *J Jpn Orthop Assoc* 62:1003, 1988.
- 神代敏之: 高血圧自然発症ラットの大腿骨頭壊死。成長軟骨帯の異常とその微細構造。日整会誌 66:102, 1992。
- 大坪義昌: 高血圧自然発症ラットにおける大腿骨頭壊死。発生頻度の性差に関する研究。日整会誌 66:83, 1992。

## ◆ 討 論 ◆

〔伊丹〕 どうもありがとうございました。

どなたか、ご質問、ご討論、ございませんでしょうか。大変おもしろい研究結果…、どうぞ。

〔高岡〕 阪大整形外科の高岡ですが、どうもありがとうございました。データを見させていただいて、その解釈なのですが、先生は、男性ホルモンが、いわゆる悪いことをしているんじゃないかということをおっしゃったと思うのですけれども、データで見ると、逆に、女性ホルモンが保護作用を持っていて、それがなくなるから男に多いという解釈もできるかと思えます。ですから、後に卵摘して、男性ホルモンをやって、その後さらに女性ホルモンをやったという群があれば、その区別ができるのではないかと思うのですが、その辺はいかがでしょうか。

〔平野〕 先生のご指摘のとおりです。この結果を検討をしている途中で、それに気づきました。女性ホルモン、例えばエストロゲンなどが、逆にその防御作用をしている可能性もあり、次にそういう実験もしないといけないというふうに考えております。ご指摘どうもありがとうございました。

〔高岡〕 それから、もう一つよろしいでしょうか。

〔伊丹〕 はい、どうぞ。

〔高岡〕 グロス・プレート・ラテラルのあたりでの異常というのをお示しいただきましたけれども、このラットというのは、かなり遺伝学的に均一な動物を使っておられるのではないかと思います。そうしますと、あるものが壊死になり、あるものが壊死にならないとすれば、壊死にならない群に、壊死を起こすような、かなり直接的な、かつ直接的な変化で、まだ完全でない、

つまり壊死には至っていないけれども、壊死を起こすかもしれないというような血管、あるいはグロス・プレートでもいいのですが、その変化が含まれているような気がするのですが、壊死を起こさなかった動物の、同じラテラルの部分、そこの詳細な観察はされましたでしょうか。

〔平野〕 正常骨化をしているSHRでも、約30%に、あのような軟骨の異常が起こってまいります。

それで、もし密接な関係があるとする、どうして一方では壊死を起こし、一方では壊死を起こさないかということですが、SHRを、ストレスを減じた状態、正常骨化を起こすような状態にして、血管がどのように分布をしていくかを見ているのですがSHRの血管分布にはラットに個体差があるんですね。

そして、その軟骨の異常があるのは、連続切片で見ていくと、起こす場所というのは外側部のある狭い範囲に限られているわけです。それで、ちょうどその変化と血管の走行が一致したような状態のときに壊死に起こるのであって、いくら骨頭軟骨の外側に変化が起こっても、血管の走行が少しでもそこから外れると、壊死を起こさないのではないだろうかというふうに、今は考えております。

〔高岡〕 よろしいですか。きのう、おととの学会で発表を聞かせていただきましたけれども、その中で、要するにハイパーテンションを起こさないように処置をすると、壊死が起こりにくくなる——いや、壊死の頻度は変わらないのですか？

〔平野〕 はい、そうです。

〔高岡〕 ハイパーテンションは壊死の発生にかかわりがないという結論と、それから、メカニカル・ストレスが、つまりグロス・プレートがメカニカルに非常に弱くなっていると。したがって、そういうところからストレスがかかると、血管にダメージが起

こって、壊死を起こすのではないかというふうなご趣旨ではなかったかと思えますけれども、あのデータの中で、いろんなメカニカル・ストレスをかけておられましたが、ラットで、あのデータにお示しになったメカニカル・ストレスが、生理的にラットの股関節にかかっているという証拠はお持ちでしょうか。

〔平野〕状況証拠から、ストレスがかかっているだろうということで、科学的なデータは持っていません。ラットの骨頭は小さすぎて、実際、具体的にどのような測定をすればよいのか、そういうことを調べるすべを持ちません。

〔高岡〕大腿骨頭壊死を、これは成人の場合もそうですけれども、ベルテスでなくて、大腿骨頭壊死も含めてそうですが、その病因というのは、今、皆さん非常に興味を持って折られるとおもって、このモデルは、そういう意味で我々、非常に興味といいますか、先生方の研究結果というのは興味を持っておるわけですが、できれば、そのメカニカル・ストレスというところにかずに、もうちょっと血管系、あるいは血流でもいいのでしょうかけれども、その辺のところを見ていただけると、大人の大腿骨頭壊死の発生機序にもかかわって、私自身、非常に興味があると思うんですけれども、今後ともまたご研究いただきますようお願いいたします。

〔平野〕ご意見、どうもありがとうございます。

〔伊丹〕ほかにございませんでしょうか。では、私がお伺いいたします。

高血圧ラットというのは、多分どちらかというと、老化モデルではないかと思うのですが、それと、成長期のベルテス病のモデルらしいという、前からのお話、どういうふうにご考えたらよろしいのか、わかりやすくご説明願えればと思います。

〔平野〕確かに老化モデルとして使われて

いるようなのですけれども、それは、成熟が終わった後のラットの状態ではないかと思えます。この、僕らが今使っている状態は、まあ、人間でいきますと、生殖年齢前の状態、子供を産む前のラットの大腿骨を使っておられますので、その両者の因果関係についてはよくわかりません。

〔伊丹〕この7週ぐらいのラットというのは、人間ですと何歳ぐらいになるんですか。

〔平野〕7週齢でしょうか。

〔伊丹〕はい。

〔平野〕これは、生殖年齢でしか比較ができないのですけれども、ラットが、子供を産みだすのは3カ月から4カ月以降です。人間が15、6歳がそのくらいとしますと、7週というのはその半分ですから、単純に割ると8歳から10歳ぐらいになるのかなということですよ。

〔伊丹〕ああ、そうですか。

〔平野〕ただ、骨端核の出現ぐあいから見ますと、ラットでは7週から骨端核が出現してまいります。骨年齢からいきますと、1歳以下の状態になってしまうわけです。だから、骨年齢と生殖年齢で、何歳に相当するかということは、見方によって大分変わるとおもいます。

〔伊丹〕もう一つ、高血圧自然発症ラットというのは、これはそういうグループがあるわけですか、そうでなくて、そういう高血圧を起こすラットという一つのラットがあるわけですか。

〔平野〕これは、京都大学の岡本先生が、京都ウイスターラットの中で高血圧を示すものだけ掛け合わせていかれて、それで非常に有名な高血圧自然発症ラットという一つの系をつくられたわけです。

今は確実に血圧を示すようなラットの系になって、商品化されて販売されております。

だから、SHRを実験に使うときは、そのもとになるのがウイスター京都ラットな

ものですから、それをコントロールとして用いることになっております。

〔伊丹〕 そうしますと、だんだん研究が進んでいきますと、この内分泌機能異常とか、何か高血圧になる原因がわかってきますと、逆に今度は、そういうふうな種族を、つくるといふこともできてくるわけですね。

〔平野〕 その後、同じような方法で、例えば糖尿病易発生ラットとか、実験に使えるような系がたくさんできてきております。

〔伊丹〕 ほかにございませんでしょうか。ございませんか。はい、どうぞ。

〔山室〕 京大の山室ですが、先ほどの話と関係して、老化促進モデル、これはマウスですけれども、京大でやるわけですが、これではオステオポロシスは非常に促進されるけれども、骨頭壊死は起こらないんですね。ラットの場合は、これはいつまでもエビフィースが残っていますか、やっぱり僕は、ペルテス病の発症のモデルとして、むしろ骨頭壊死と言うよりも、近いように思っておりますけれども。

それで、一つちょっとお聞きしたいのですけれども、SHRと普通の京都ウイスターのオバリエクトミーをしてからの体重のふえぐあいは、何か差がありましたでしょうか。

〔平野〕 オスの方は、去勢すると、15週になると体重が落ちてくるんですけども、メスの方は……。

〔山室〕 メスの方は、大体オバリエクトミーをすると、ぐっと体重がふえるわけですね。それに、SHRと京都ウイスターとで体重のふえ方に差があるかどうか。

〔平野〕 済みません、そこのところは、今回、検討しておりません。

〔山室〕 というのは、これは体重がグーッとふえるところに骨頭壊死が起っていますので、メスのラットは、オバリエクトミーを成長期にすると、グーッと体重が、非常に強くふえるのですね。物すごく大きくなる。恐らくこれはエストロジェンが体重のふえるのを抑制しているような効果があるのかと思っていますけれども、そのときに、体重差がぐっと違えば、何かそういうメカニカル・ストレスというようなものも、少し何か関係があるのかなと思ったものですから……。

〔平野〕 わかりました。検討不十分で申し訳ありませんでした。

〔伊丹〕 はい、ありがとうございます。大変有意義なご発表をいただきまして、ありがとうございます。