「骨壊死の病因・発生機序の解明及び新しい治療法の開発」

大阪大学医学部整形外科
坂　井　孝　司

初めに、今回研究助成を頂いた理事長の伊丹先生に御礼申し上げます。

今回は、1.非外傷性ウサギ骨壊死モデルに対する造影MRI, 2.特発性大腿骨頭壊死症に対する造影MRI、3.腎移植後の骨壊死シクロスポリン使用群とFK506使用群との比較、4.非外傷性ウサギ骨壊死モデルに対するFK506投与、について報告します。

まず、非外傷性ウサギ骨壊死モデルに対する経時的造影MRIについてです。私達は、ウサギ血清病モデルを利用した、非外傷性ウサギ骨壊死モデルについて研究を進めてきました。このモデルでは、馬血清を3週間隔で2回目投与後1週から3週で骨髄壊死と骨梁壊死が大腿骨近位metaphysisを中心に発生します。処置後早期では類洞への赤血球漏出と細動脈血栓、免疫複合体沈着が認められます。

このモデルを用いてガドリニウム造影を含むMRIを施行し、処置後1週、3週で病理組織と対比した結果、造影脂肪抑制T1像で壊死が1週から検出され、metaphysisとdiaphysisの血管流出入部を中心に壊死領域がhomogeneousに造影されることをこれまで報告しました。今回の目的は、このモデルを用いて同一個体における壊死発生から修復過程に至る経過を縦断的に造影MRIを使用して明らかにすることであります。

MRIは、spin echo法で冠状断面のみ撮像、1羽につき、T1、T2、脂肪抑制T1、Gd造影T1、Gd造影脂肪抑制T1の合計5種類を撮像しました。初回馬血清投与前、2回投与後72時間、1週、3週、6週、9週及び12週まで同一個体において繰り返し経時的にMRを施行しました。72時間で8羽、6週で6羽、12週で4羽を処置し、EDTA脱灰後HE染色を施行した病理組織と対比しました。

72時間後の結果です（図1）。造影脂肪抑制T1でdiaphysisに小さな造影域を認めます。組織では造影された領域と一致して、metaphysisを中心に赤血球漏出が見られました。

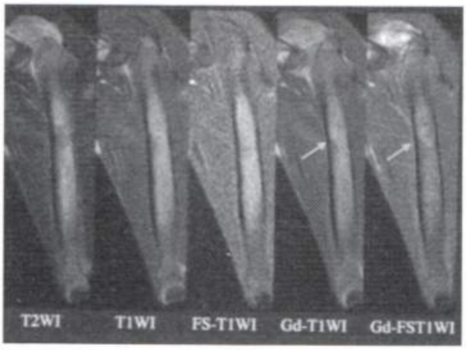

図1　72時間MRI

6週後の結果です。(図2)。造影脂肪抑制T1では72時間後からdiaphysisに小さな造影域を認め、3週までにfocalに造影域が拡がっています。6週ではmetaphysisの造影がより明確になり、diaphysisではinhomogeneousに造影されます。6週の画像では、非造影よりも造影MRIで異常が明確になっています。

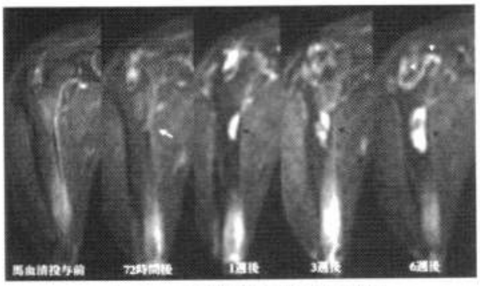

図2　6週群 Gd-FSTIWI

組織との対比です（図3）。diaphysisの造影境界であるaでは、骨壊死と幼弱な新生骨梁が出現しています。6週では1週や3週と比べ、壊死領域内での造影剤の漏出が減少して境界部の修復組織が造影されるようになり、inhomogeneousな所見をとると考えられます。Metaphysisの造影領域であるbでは、広範な骨壊死を認めます。

6週群では12大腿骨中10大腿骨に壊死を認めました。撮像法の比較では、T1、T2、及び脂肪抑制T1では3週後diaphysisのみの壊死が部分的に検出されるのに対し、造影画像では72時間から検出され始め、3週と6週で造影パターンの違いが見られました。

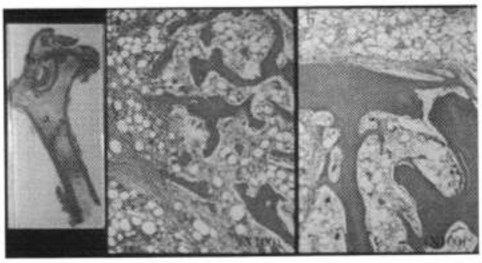

図3　6週群病理組織

12週の結果です（図4）。造影脂肪抑制T1では6週までは別々に造影されていたmetaphysisとdiaphysisの造影領域が連続しているのがわかります。

diaphysisの壊死境界部では修復反応が旺盛で、新生骨梁もみられました。この時期になると典型的な骨壊死はあまり見られず、旺盛な修復過程を示しました。

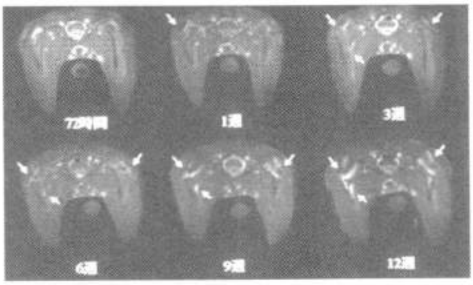

図4　12週群 Gd-FSTIWI

MRIの赤血球漏出と壊死に対する感度を示します。非造影のmetaphysisでは6週で13%、9、12週で33%、diaphysisでは1週で19%、3週で50%、12週で100%となっていました。これに対し、造影のmetaphysisは1週38%、3週75%、6週100%、diaphysisは72時間29%、1週56%、3週94%、6週100%となっていました。

以上をまとめますと、壊死域は2回目馬血清投与後1週から検出可能で非造影MRIよりも早期に検出可能でありました。壊死の発生から修復過程に至る組織学的変化を造影パターンの変化として捉えられました。すなわち、72時間から3週までの造影パターンは、ガドリニウムのwash-outの遅延や毛細血管などの漏出が主な原因と考えられ、focal homogeneous patternが多数を占めました。一方、6週以後では新生骨梁を含む旺盛な修復反応と一致し、inhomogeneousで広範な造影域を認めました。

次に、特発性大腿骨頭壊死症に対する造影MRI所見について報告します。

特発性大腿骨頭壊死症に対する造影MRIの報告では、壊死域が全く造影されない、homogeneousあるいはmarginalに造影される、といろいろな報告がありますが、先のウサギの実験から、これらの違いは骨壊死発生からMRI撮像までの期間やX線学的病期によって異なると考えられます。

特発性大腿骨頭壊死症29例49股を対象に、SPGR、T2、脂肪抑制SPGR、及び造影脂肪抑

制SPGRを施行した結果を示します。典型的なband patternはstageが進行するにつれて減少しましたが、造影脂肪抑制SPGRでは全例で境界が明瞭となり、また修復の程度やbone marrow edemaも検出しやすくなりました。

上からSPGR、T2、脂肪抑制SPGR、及びガドリニウム造影脂肪抑制SPGRです（図5）。向かって左がstage2、右がstage1の症例で、bandとその近傍が造影されています。

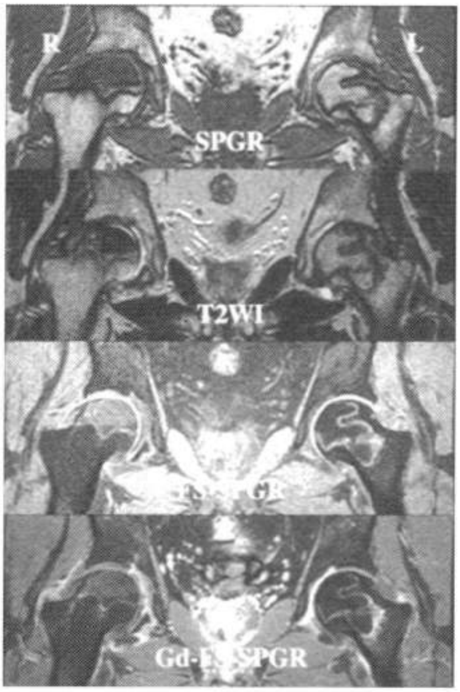

図5 MRI

別の例では（図6）、造影されたbandとその近傍には修復組織の混在が見られ、また近位の造影域はbone marrow edemaと一致しておりました。

次に、腎移植後の骨壊死発生について報告します。腎移植後の骨壊死は移植手術、ステロイドの投与時期が明確であり、骨壊死発生要因を調査するには理想的と考えます。骨壊死の発生要因について調査するため、使用した免疫抑制剤の違いによる直接的、間接的影響を検討しました。

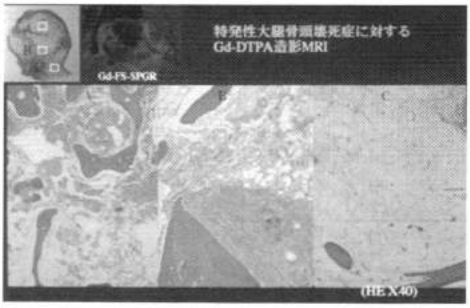

図6　特発性大腿骨頭壊死症に対するGd-DTPA造影MRI

FK506は強力な免疫抑制剤で、遺伝子発現を調節する転写因子の機能を介したhelper TcellでのIL-2産生抑制を作用機序とします。腎移植における免疫抑制剤としてシクロスポリン使用群とFK使用群とについてMRI screeningを行い比較しました。

対象はシクロスポリン群73例とFK群44例です。移植腎の違いを除き、性別、年齢、身長、体重には有意差はありませんでした（表1）。また移植前透析期間、HLA、ABO不適合数、基礎疾患、MRI施行時期についても両群間で差はありませんでした。両群におけるステロイド投与は同じプロトコールとしました。但し急性拒絶反応に対してはステロイド大量静注投与を行いました。

表1　対象　1989.8-1999.10 腎移植117例

	FK	CsA	Mann Whitney U-test or Chi-square test
・患者数	44	73	
・性別（男：女）	28：16	52：21	n.s.
・移植時年齢（歳）	35 ± 10	35 ± 10	n.s.
・身長（cm）	165 ± 9	165 ± 9	n.s.
・体重（kg）	57 ± 10	56 ± 9	n.s.
・移植腎（生：死）	40：4	52：21	*0.019*

結果です。MRIでの骨壊死発生はシクロスポリン群で7例9.6%を認めましたが、FK群では認めませんでした。

移植後ステロイド総投与量について、シクロスポリン群で多い傾向にあり、特に2週、4週では有意差を認めました（表2）。

表2 移植後の steroid 総投与量

	FK	CsA	Mann Whitney U-test
2wks	1301 ± 716	1800 ± 898	*0.005*
4wks	1974 ± 974	2514 ± 1219	*0.019*
6wks	2547 ± 1176	3053 ± 1621	n.s.
8wks	2879 ± 1421	3300 ± 1739	n.s.

mean ± SD(mg)

骨壊死例と非骨壊死例との比較では、骨壊死例でステロイド総投与量が多い傾向にありました（表3）。

表3 移植後の steroid 総投与量

	ON+	ON-	Mann Whitney U-test
2wks	2373 ± 922	1564 ± 837	n.s.
4wks	3200 ± 1515	2255 ± 1092	n.s.
6wks	4416 ± 2353	2764 ± 1340	n.s.
8wks	4641 ± 2375	3047 ± 1515	n.s.

移植後ステロイド大量静注投与量についても、シクロスポリン群で多い傾向にあり、特に2週、4週では有意差を認めました（表4）。

表4 移植後の steroid 大量静注投与量

	FK	CsA	Mann Whitney U-test
2wks	722 ± 718	12130 ± 871	*0.003*
4wks	1151 ± 925	1667 ± 1177	*0.016*
6wks	1540 ± 1176	1994 ± 1539	n.s.
8wks	1725 ± 1410	2063 ± 1646	n.s.

mean ± SD(mg)

骨壊死例と非骨壊死例では、骨壊死例でステロイド投与量が多い傾向にあり、2週で有意差を認めました（表5）。

急性拒絶反応の頻度はシクロスポリン群で有意に多く、また骨壊死例で多い傾向にありました。この違いがステロイド大量静注投与量に反映されていると考えられました。

表5 移植後の steroid 大量静注投与量

	ON+	ON-	Mann Whitney U-test
2wks	1786 ± 894	980 ± 821	*0.041*
4wks	2366 ± 1481	1416 ± 1065	n.s.
6wks	3259 ± 2141	1732 ± 1305	n.s.
8wks	3304 ± 2153	1849 ± 1469	n.s.

mean ± SD(mg)

以上まとめますと、当院における腎移植患者のうち、FK使用44例では骨壊死の発生を認めず、シクロスポリン群との比較では2週、4週でのステロイド投与量がFK使用群では少なく、また急性拒絶反応の頻度も少なく、この差が骨壊死発生の差に間接的に影響していると考えられました。

次に移植後の骨壊死発生抑制を意図して、非外傷性ウサギ骨壊死モデルに対するFK506投与を施行しましたので結果を報告致します。

先に述べましたウサギモデルを使用して、FK1shot群24羽、FK連日投与群17羽、FK投与を行わないコントロール群13羽を対象としました。FKは0.1～0.3 mmol/kg /回を静注投与としました。

結果です（図7）。骨髄壊死の頻度はコントロール群27%、FK1shot群2%、FK連日投与群14%で、骨壊死の頻度はコントロール群42%、FK1shot群17%、FK連日投与群12%でした。すなわちFK投与によって骨髄壊死、骨壊死ともに減少しましたが、FK1shot群と連日投与群の比較では有意差はありませんでした。

最後に現在、修復過程を促進する目的で、ウサギモデルに対し低周波超音波パルスを使用した実験を行っています。臨床例で用いられている30mW/cm²の4倍、120mW/cm²を照射していますが、現在のところソフテックス、組織の評価では有意な改善は認められて

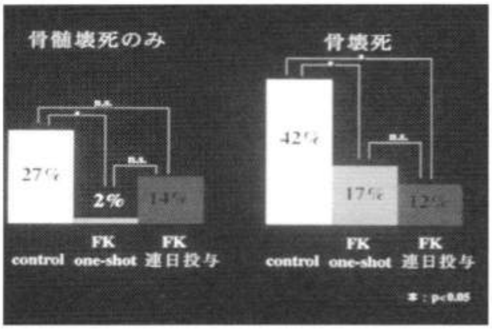

図７

いません。今後も条件を考慮して検討していきたいと考えています。

以上です。ありがとうございました。

伊丹　ありがとうございました。