

高磁場 MRI を用いたステロイド性大腿骨頭壊死症の病態解明と新規予防法の検討

京都府立医大大学院医学研究科 運動器機能再生外科学

齊藤正純、藤岡幹浩、上島圭一郎、林 成樹、石田雅史、池上 徹、久保俊一

はじめに

ステロイド性大腿骨頭壊死症の病態解明および治療法の進歩には MRI が大きな役割を果たしてきた。特発性大腿骨頭壊死症の診断基準の一つである大腿骨頭内の MR T1 強調画像における band 像は本疾患に特異的な所見である。われわれは腎移植患者においてステロイド投与後最短 6 週で MR 画像上での band 像が確認できることを報告した¹⁾。動物実験では、大腿骨頭の阻血を発生させてから MRI で band 像が出現するまでの期間は 4 週であったと報告されている²⁾。これらからステロイド性骨壊死では大腿骨内に骨壊死が発生する時期はステロイド投与後 2 週以内であると推察されている。動物モデルを使用した最近の報告では、ステロイド投与後 3~5 日目から血管新生因子の発現が変化している³⁾ことや酸化ストレスが発生している⁴⁾ことが述べられている。したがってステロイド投与後 2 週以内に骨壊死につながる阻血にかかわるイベントが起こっていると考えられる。しかし、実際にステロイド投与後早期の骨内の血流変化を評価することは困難であった。

MR 装置は同一個体に対して非侵襲的に、in vivo で繰り返し評価することができるため経時的な評価に有用である。血流評価を行うための撮像方法は dynamic contrast-enhanced MRI (DCE-MRI) が用いら

れることが多い⁵⁾。本研究では、DCE-MRI を用いてステロイド投与後早期の大腿骨内の血流を評価することを目的とした。

方法

28 週齢以上の雄性日本白色家兎 9 羽の右殿筋内にメチルプレドニゾロン (methylprednisolone: MPST) 20mg/kg を単回注射し、ステロイド性骨壊死モデルを作成した⁶⁾。

MR 装置は Agilent 社製動物用横置き型 MRI system、7.04T を使用した。家兎をイソフルラン吸入麻酔下に腹臥位とし、MR 装置に固定した。撮像時期は、ステロイド投与前とステロイド投与後 1、5、10、14 日目とした。

①DCE-MRI

Spoiled gradient echo 法を用いた DCE-MRI で両股関節と大腿骨骨幹部を含む画像 (図 1) を 40 回連続で撮像した。10 回目の撮像時に 0.2 mmol/kg の MRI 用造影剤 (Gadolinium Diethylenetriaminepenta-acetic Acid: Gd-DTPA) を外側耳静脈から投与した。大腿骨近位部の骨壊死好発部位に region of interest (以下 ROI) を設定した (図 1)。

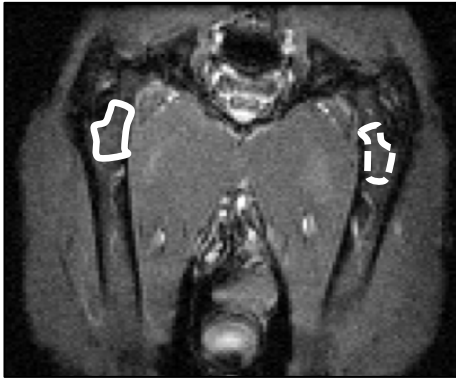


図1 dynamic contrast-enhanced MRI の画像

- : 右大腿骨の骨壊死好発部位
- - : 左大腿骨の骨壊死好発部位

②評価方法

撮像開始時の信号強度 (signal intensity: SI) を基準に relative intensity (RI) を次の式で算出した。

$$RI(t) = SI(t) / SI(0)$$

(RI(t): 時間 t における relative intensity、

SI(t): 時間 t における SI、SI(0): 時間 0 における SI)

この RI(t) の値を経時的にプロットして time-signal intensity curve を作成した (図 2a)。

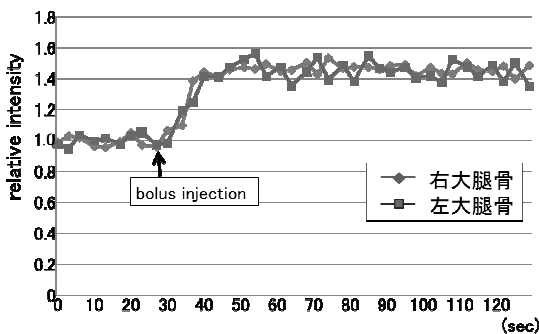


図2a time-signal intensity curve

40 回連続で撮像した RI(t) の値を造影剤投与前の 10 回の a 相、造影剤投与直後に SI が増加しつつある時期の 15 回の b 相と造影剤投与後定常状態となった 15 回の c 相の 3 相に分けた (図 2b)。

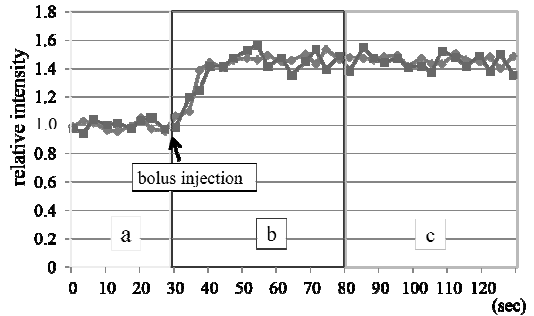


図2b time-signal intensity curve の評価

- a. 造影剤投与前 10 回
- b. 造影剤投与直後に造影剤投与直後の SI が増加しつつある時期の 15 回
- c. 造影後定常状態となった 15 回

Time-signal intensity curve から以下の評価を行った。

- I. Time signal intensity curve の経時的な変化を確認した。
- II. Enhancement ratio (ER) を c 相の RI(t) の値の平均を a 相の平均で除算することで算出した。
- III. Initial slope (IS) として time signal intensity curve の造影剤投与直後の傾きを算出した。
- IV. Area under the curve (AUC) を b 相の RI(t) の値を総和することで算出した。

③統計学的評価

ER、IS と AUC において、ステロイド投与前の値とステロイド投与後 1 日目、5 日目、10 日目および 14 日目の中で最小

となった値とを Wilcoxon signed-rank test で統計学的に比較した。

④組織学的評価

ステロイド投与後 14 日目に MRI を撮像した後、ペントバルビタールの過量投与により犠牲死とした。HE 染色の組織標本を大腿骨近位部の前額断で作製した。周囲の骨髄造血細胞壊死を伴う骨梁内骨細胞の空虚化と明らかな核濃縮、あるいは造血細胞と脂肪細胞がともに広範に壊死を生じている部位を骨壊死部位と定義した⁷⁾。

結果

I. Time-signal intensity curve の経時的な変化

代表的な個体の time signal intensity curve の経時的な変化を提示する。

ステロイド投与後 5 日目にステロイド投与前と比較して造影剤投与後の信号強度が低下し、造影剤投与後のカーブの立ち上がりが緩やかとなった。この傾向はステロイド投与後 10 日目には消失し、14 日目にはステロイド投与前と同じレベルまで信号強度は改善した(図 3a-e)

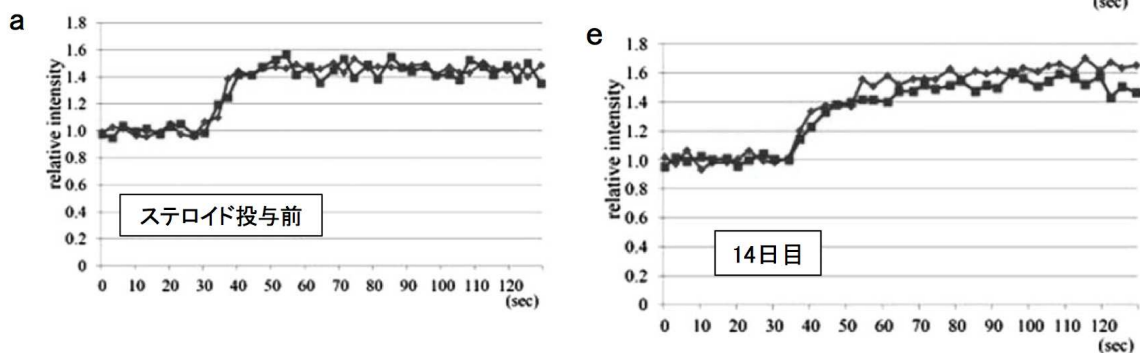


図 3 a-e 代表的な個体の time-signal intensity curve の変化

II. 骨壊死好発部位の ER の変化

18 大腿骨中 3 大腿骨で ER が上昇したが、残りの 15 大腿骨で ER は低下した。ステロイド投与前と比較してステロイド投与後に ER は統計学的に有意に低下した(図 4a)。最も低下した時期は、ステロイド投与後 1 日目が 5 大腿骨(28%)、5 日目が 5 大腿骨(28%)、10 日目が 3 大腿骨(17%)で 14 日目が 2 大腿骨(11%)であった。

III. 骨壊死好発部位の IS の変化

18 大腿骨中 2 大腿骨で IS が上昇したが、残りの 16 大腿骨で IS は低下した。ステロイド投与前と比較してステロイド投与後に IS は統計学的に有意に低下した(図 4b)。最も低下した時期は、ステロイド投与後 1 日目が 4 大腿骨(22%)、5 日目が 6 大腿骨(33%)、10 日目が 2 大腿骨(11%)で 14 日目が 4 大腿骨(22%)であった。

IV. 骨壊死好発部位の AUC の変化

18 大腿骨中 3 大腿骨で AUC が上昇したが、残りの 15 大腿骨で AUC は低下した。ステロイド投与前と比較してステロイド投与後に AUC は統計学的に有意に低下した(図 4c)。最も低下した時期は、ステロイド投与後 1 日目が 5 大腿骨(27%)、5 日目が 5 大腿骨(27%)、10 日目が 2 大腿骨(11%)で 14 日目が 3 大腿骨(17%)であった。

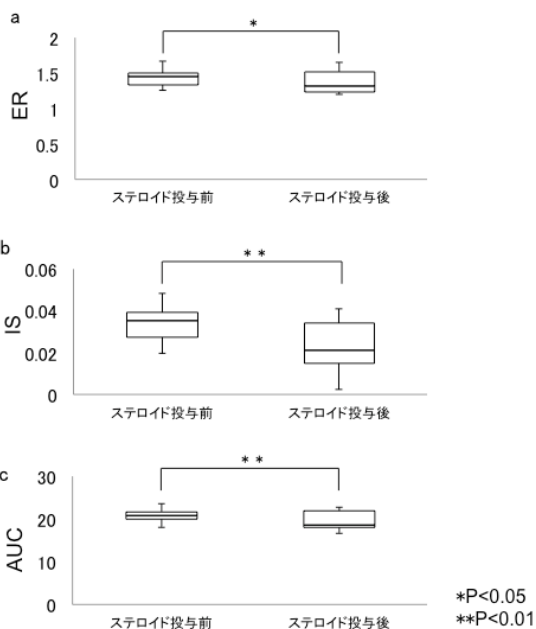


図 4 a: ER の変化、b: IS の変化、
c: AUC の変化

V. 組織学的評価

MRI を撮像した 9 羽 18 大腿骨の組織学的評価を行った。18 大腿骨中、1 大腿骨(9 羽中 1 羽)で骨壊死を認めた。骨壊死を認めた大腿骨の ER、IS および AUC はステロイド投与後 5 日目に低下していた。ER と IS の低下の程度は 18 大腿骨中 3 番目で、AUC の低下の程度は 2 番目であった。

考察

MRI を用いた血流評価には DCE-MRI が用いられることが多い。評価方法としては、ER、IS、AUC、relative signal intensity、time to peak enhancement や washout slope などがあげられている。これらの値に関して、検者間差や motion artifact などの影響が関与するため、一つのパラメータだけでは正確な事象を説明することができないと考えられる。したが

って、複数のパラメータで総合的に判断すべきであると報告されている5)。そのため本研究ではこれらの中からER、ISとAUCの3つのパラメータを併用して評価した。骨壊死好発部位において、ステロイド投与後に3つのパラメータともに統計学的に有意に低下していた。3つのパラメータすべてで低下しているため、実際に血流が低下している可能性が高いと考えた。多くの大腿骨において14日目までに血流が低下しており、半数以上は10日目までに血流が低下していた。

過去の報告でステロイド投与後3日目に骨内にvascular endothelial growth factor (VEGF)が発現していること3)や、ステロイド投与後5日目までにDNAの酸化障害が生じる4)ことが述べられている。今回の結果では10日目までに半数以上の大腿骨で血流が低下しており、これまでに報告されているステロイドの生体への影響が出現する時期に実際に血流が低下していることを証明できた。

DCE-MRIを用いた今回の研究手法は、ステロイド性骨壊死の病態解明だけでなく、予防法や治療法の開発にも応用可能であると考えられる。骨壊死予防効果をもつ薬物療法や物理療法が血流にどのような影響を与えているかをin vivoで経時的に確認することが可能である。したがって、本研究は今後のステロイド性骨壊死の予防法研究に大きな役割を果たすことが期待できる。

結語

DCE-MRIを用いてステロイド投与後早期の大腿骨内の血流変化を評価した。ステロイド投与後早期に骨内の血流低下を生じていることが明らかになった。

謝辞

本研究は財団法人日本股関節研究振興財団の平成24年度研究助成により行いました。財団法人日本股関節研究財団に感謝いたします。

参考文献

1. Kubo T, Yamazoe S, Sugano N, Fujioka M, Naruse S, Yoshimura N, Oka T, Hirasawa Y. Initial MRI findings of non-traumatic osteonecrosis of the femoral head in renal allograft recipients. *Magn Reson Imaging*. 1997;15:1017-23.
2. Nakamura T, Matsumoto T, Nishino M, Tomita K, Kadoya M. Early magnetic resonance imaging and histologic findings in a model of femoral head necrosis. *Clin Orthop Relat Res*. 1997 Jan; (334):68-72.
3. Kabata T, Matsumoto T, Yagishita S, Wakayama T, Iseki S, Tomita K. Vascular endothelial growth factor in rabbits during development of corticosteroid-induced osteonecrosis: a controlled experiment. *J Rheumatol*. 2008 Dec;35(12):2383-90.
4. Ichiseki T, Kaneuji A, Katsuda S, Ueda, Sugimori T, Matsumoto T. DNA oxidation injury in bone early after steroid administration is involved in the pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2005;44:456-60.
5. Yang X, Knopp MV. Quantifying tumor vascular heterogeneity with dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging: a review. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:7

32848.

6. Yamamoto T, Iriya T, Sugioka Y, Sueishi K. Effects of pulse methylprednisolone on bone and marrow tissues: corticosteroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Arthritis Rheum.* 1997 Nov;40(11):2055-64.
7. Yamamoto T, Hirano K, Tsutsui H, Sugioka Y, Sueishi K. Corticosteroid enhances the experimental induction of osteonecrosis in rabbits with Shwartzman reaction. *Clin Orthop Relat Res.* 1995 Jul; (316):235-43.