

大腿骨頭壊死症の動物モデルの開発と 発生病理に関する研究

提供者：九州大学医学部第一病理学教室

居石克夫、山本卓明

【伊丹】では、午後の部に入ります。午後の部は研究助成金によりまず研究成果報告をお願いすることになっておりますが、最先端の研究の成果の報告があるはずでありますので、いろいろと質疑、討論を活発にお願いしたいと思います。時間は比較的時間とっておりますので、どうぞよろしくお願いたします。

では、最初の居石先生、よろしくお願いたします。

【山本】本来、教室の居石が研究の報告をさせていただき予定でしたが、離福できない用事が生じまして、代わりに私、山本が報告させていただきます。

当財団から研究助成をいただきましたテーマは、大腿骨頭壊死症の動物モデルの開発と発生病理に関する研究です。なぜこういうテーマを選んだかと申しますと、骨頭壊死症に対し、有効な外科的手術は多く開発されましたが、整形外科医は予防という観点で未だ非常に無力です。そこで何とか骨頭壊死の発生を予防できないかという目標を掲げ研究に取り込みました。

この研究を行うに当たり大きく二つのテーマを持って臨みました。一つが人体での早期の骨頭壊死病変を用いた病因検査です。非常に早期の、骨壊死がまさに起こったばかりの骨頭を無症状の患者さんから採ることは生検以外不可能です。従って、主に剖検症例を中心に検討を加えました。二

つめは動物モデルを開発しそれを解析することによって予防法開発へと応用することです。

まず剖検症例についてですが、生前は無症状で、ステロイド投与などの危険因子を有する股関節を採取し、無症状期の大腿骨頭で病因を検索しました。さらにMRIと組織像との関係を検討し、早期診断の意義を検討しました。

症例は71骨頭で、そのうちステロイドの使用歴のある大腿骨頭が47骨頭です。男女比は41例と30例、平均年齢が55歳、ステロイドは平均4,494mg投与されていました。

これら71骨頭中、4例に無症状期の骨頭壊死を見いたしました。その4例の内訳は、33歳女性＝SLE、47歳女性＝大腸ガン、44歳男性＝SLE、40歳の女性＝原発性単純性肝硬変です。全例ステロイドを投与されております。

骨頭壊死の典型的な像は3層構造を示すことです。壊死層、この部分はempty lacuna、壊死した脂肪細胞より成っています。それに対する修復反応から成るのが、2つめの修復反応層です。これは、従来は添加物形成や肉芽組織の形成より成ると報告されてきましたが、それよりも早期の細網線維や血漿成分の浸出、更にマクロファージを中心とした細胞性修復反応や脂肪細胞の増殖といった、組織学的に非常に早期の反応を認めました。しかも、その像をMRIは認識可能でした。この外側にあるのが健全層

です。従って骨頭壊死と診断する際には、壊死に対する修復反応を認めて初めて診断可能であると考えられました。更に、MRIはこのような組織学的に早期の所見を認識できますので、非常に有用であると考えています。

以上をまとめますと、大腿骨頭壊死症の病理組織学的特徴は、ある一定領域での骨髓細胞、脂肪細胞、骨梁、骨細胞の梗塞性病変です。これに対する修復反応は非常に早期、即ち組織的には1~2週より認めました。

次に動物モデルの作成について述べます。まず、動物モデルは動物種の異なりにより限定された類似病変であるということを確認しておかなければなりません。そして、条件として、類似性、再現性、病因に共通性がある実験条件、定量性、コスト、取り扱いの容易さ、そして最後に病因解析、診断、治療法確立への応用性がある。このような条件を考慮に入れて、動物モデルの開発を試みました。

ステロイド投与によって引き起こされる臨床症状には、脂質代謝異常、過凝固状態、骨内圧上昇、骨粗鬆等が報告されています。これらを基本にして脂肪塞栓、血栓、コンパートメントシンドローム、微小骨折などが病因として指摘されております。今回私たちは、過凝固状態による血栓性塞栓が最終的な骨頭壊死の原因ではないかと仮説して、動物モデルを作成しました。

過凝固状態作成のためにShwartzman反応という、グラム陰性桿菌の細胞壁成分であるエンドトキシンを2回静注することによって引き起こされる、DICモデル(循環障害モデル)を用いました。このShwartzman反応にステロイドを大量併用投与する実験群を作成しました。

結果ですが骨壊死発生率は大腿骨では、Shwartzman反応単独が20%、ステロイド単独が33%、Shwartzman反応にステ

ロイドを併用投与した群では86%と、高率に骨壊死を起こしました。本モデルは29%に骨端部でも壊死を認めています。同様に上腕骨でも58%に骨壊死を認めました。

壊死発生率単独で判定すると、非常に小さな壊死層も一つとカウントしてしまいますので、壊死範囲も測定しました。壊死占有面積は、Shwartzman反応では1.4%、ステロイドは0.6%に対し、本モデルは42.6%と、面積も広範囲であることがわかりました。したがって、本モデルは壊死発生率も非常に高くが、しかも壊死範囲も非常に広いことがわかりました。

図1にShwartzman反応にステロイドを併用投与したモデルのマクロ像とその病理組織像を示します。

次に、本モデルの病因解析として、薬剤投与後24時間以内に外因系凝固系の補体である組織因子について免疫組織学的に検索しました。すると単球系や脂肪細胞を中心に、組織因子の発現が亢進していました。これは早期に凝固系が活性化されていることを示しております。

また24時間後には骨内のあらゆる血管にフィブリン血栓が多発し、この血栓の周囲に壊死層を認め、原因として血栓が重要であると考えました。

本モデルのステロイド誘発大腿骨頭壊死症との類似性として、骨壊死の多発、つまり大腿骨頭のみならず上腕骨あるいは膝関節周囲にも発生することです。

今後はエンドトキシンがステロイドの投与量依存性に骨壊死が発生するかどうかという点、ステロイドの投与間隔等について検討する必要があると思います。またステロイド投与により直接的に何が骨壊死の発生を上げたのかを検索する目的で、組織因子あるいはPAI-1を中心に、更に詳細なる検討を加えたいと考えています。またステロイド投与による高脂血症の関与についても今後の検討課題です。

Histological features (Shwartzman + Steroid)

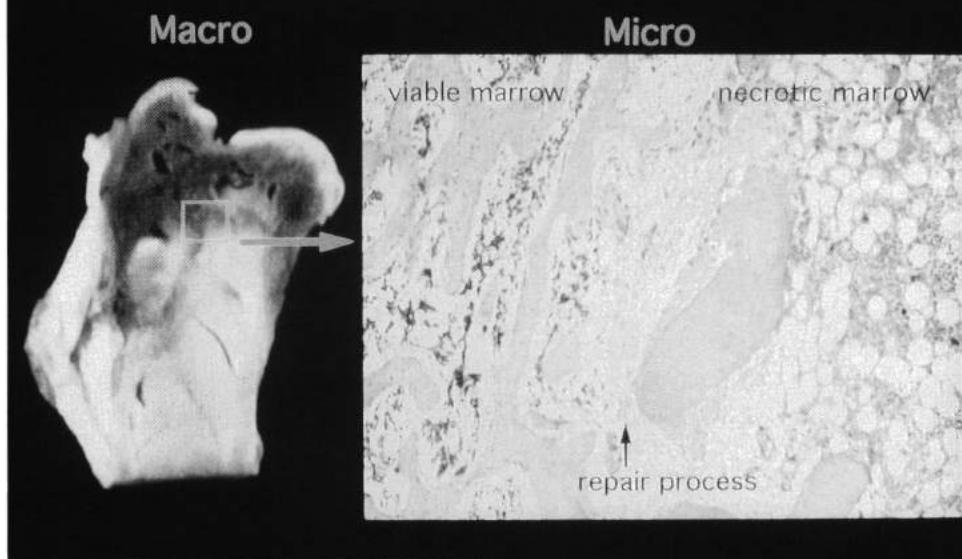


図1. Shwartzman反応とステロイド投与による骨壊死モデル
左のマクロ像で骨幹端部より骨幹部は壊死に陥っている。
右の組織像は境界部を示す。壊死巣に対する添加骨形成
や、肉芽組織形成を認める。

以上の要素について、分子病理学的な検索を行うことによってさらに病因を究明していき、予防法、治療法へと応用したいと考えています。

最後になりましたが、本研究に対してご援助を頂きました伊丹理事長に深謝申し上げ報告を終わらせて頂きます。どうも有難うございました。

〔伊丹〕 ありがとうございます。ただいまの骨頭壊死の動物モデルの開発と発生病理に関する研究ですが、ご質問、ご討論はございませんでしょうか。どうぞご遠慮なく……。

ありませんようですね。どうもありがとうございました。