

# 村田 雅和 論文内容の要旨

## 主 論 文

Osteonecrosis in Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats:  
- Effect of Glucocorticoid - .

易卒中高血圧自然発症ラットを用いた大腿骨頭壊死の研究  
—ステロイドホルモン負荷の影響—

共著者名 村田雅和、熊谷謙治、宮田倫明、尾崎 誠、進藤裕幸

J Orthop Sci 12 巻 3 号 289-295 2007 年

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻  
(指導教授 進藤裕幸教授)

(緒言)

特発性大腿骨頭壊死の原因は、未だ解明されていないが、血液凝固系異常による血栓形成、血管内皮細胞の異常、微小血管の破綻、脂質代謝異常による脂肪塞栓と脂肪細胞増大に伴う骨内圧の上昇などが想定、提唱されてきている。

全身性エリテマトーデス、関節リウマチなどの膠原病、腎疾患、臓器移植後などの治療に用いられる大用量のステロイドホルモン投与は、骨壊死に対する主な危険因子の 1 つと疫学的に実証されている。しかし、ステロイドホルモンが骨壊死を誘発するメカニズムはまだ明らかでなく、予防処置も開発されていない現状である。近年、ステロイド誘発性の骨壊死のメカニズムとしてアポトーシスと酸化ストレスの関与が注目されている。

自然発症高血圧ラット(SHR)において、大腿骨頭壊死が発生し、組織学的に人間の大腿骨頭壊死と密接に類似していることを発見された。以来、我々は骨壊死の病因を調査するモデルとして利用、研究してきた。さらに、脳卒中自然発症高血圧ラット(SHRSP)において高頻度に、かつ定型的な大腿骨頭壊死が発生することが報告されている。

本研究において、我々は脳卒中自然発症高血圧ラット/長崎(SHRSP/Ngsk)で大腿骨頭壊死の発生における、ステロイドホルモンの影響を調査した。さらにステロイド投与後の骨頭での酸化ストレスと骨壊死の関係に注目し研究した。

#### (対象と方法)

SHRSP/Ngsk の 17 週齢にステロイドホルモンとして、メチルプレドニゾロン 5mg (約 20mg/kg) を一回投与した群 (S群:n=31) および負荷のないコントロール群 (C群:n=40) を比較するため、19 週齢で犠牲死解剖した。本研究のプロトコールは、長崎大学動物実験のガイドラインに準拠して作成した。心臓採血により採取した血液サンプルを用い血液生化学検査を行い、また両側大腿骨頭を採取し、ホルマリン固定後脱灰し、パラフィン包埋し組織学的に観察評価を行った。骨壊死判定は Arlet らの基準に従って、評価した。さらに酸化ストレスの影響に関しては免疫組織学的に、抗 4HNE 抗体および抗 8OHdG 抗体を用いて、アポトーシスに関しては TUNEL 法で、S群とC群で両群間の染色性の違いを比較した。

#### (結果)

S群はステロイドホルモン投与後体重の減少を認めた。血液生化学データでは、S群において、血小板数の減少と、総コレステロール、HDL、LDL、TRG 値の有意な増加が認められた。組織学的判定では、骨壊死は empty lacunae を呈する骨梁の壊死と添加骨形成をもって定義される。本研究における大腿骨頭壊死の頻度はC群 51.2%に対し、S群 95.2%と有意に高い傾向があった。両群とも壊死像は典型的なものが多く、さらにS群においては、骨頭の骨髓腔に脂肪細胞の増殖、膨化が著明で髓腔大半を占拠し、一部変性、骨髓壊死を呈する早期壊死像が 37.1%に認められた。免疫組織学検査では、S群において抗 4HNE 抗体は脂肪細胞の辺縁に、抗 8OHdG 抗体は骨髓細胞に染色性を強く認め、ステロイドホルモン投与による骨壊死の原因としてアポトーシスに加えて酸化ストレス障害の関与も大きいことが示唆された。

#### (考察)

本研究では、ラットにステロイドホルモンを負荷することで著明な高脂血症を呈し、また骨壊死発生の有意な増加を認めた。ステロイドホルモン負荷で骨髓内脂肪が増加することは知られている。本研究でも著明な増加および肥大を認め、さらに脂肪変性壊死もみられ、Arlet 等の定義する早期の骨髓および骨壊死像の病態と解釈された。今回ステロイドホルモンによるアポトーシスや酸化ストレス障害の関与も大きいことが示唆された。また本結果および過去の微小循環生理学的報告から、骨髓内コンパートメント圧上昇に伴う虚血性変化によって脂肪細胞の変性壊死さらに血管内皮傷害を来し、若いては骨頭壊死が生じるという仮説が想定され得る。今後サイトカインや分子生物学的解明が望まれる。

実験用のラットは他の種と異なり純血種であり、病因研究に有用であるが、しかし骨壊死の研究にラットを用いる施設は今現在限られている。ラットにステロイドホルモンを投与し骨壊死を誘発した報告はなく、本研究の結果をもとに、本モデルを用いた大腿骨頭壊死症の予防法の開発が期待され、また薬物コントロールへの応用としては、特に脂質代謝改善剤や血小板機能抑制剤を用いたものが期待され、応用研究を遂行中である。