

野崎 義宏 論文内容の要旨

主 論 文

Pravastatin Reduces the Steroid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head in SHRSP Rats

プラバスタチンは脳卒中易発症高血圧自然発症ラットにおける
ステロイド誘発性大腿骨頭壊死を減少する

野崎義宏、熊谷謙治、宮田倫明、丹羽正美

Acta Orthopaedica 83 巻 1 号 2012(掲載予定)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻(主任指導教員:丹羽正美教授)

緒言

膠原病、腎疾患、臓器移植後などの治療に用いられる多量のステロイドホルモンでステロイド誘発性大腿骨頭壊死が発症する。病因として、酸化ストレスの増加、脂質代謝異常、凝固線溶系の異常などが考えられているが、その発症予防の方策も確定されていない。脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHRSP)の大腿骨頭壊死は組織学的に人間の大腿骨頭壊死と類似しており、15 週齢から 17 週齢の壮齢期に高頻度に発症し、ステロイドホルモンの負荷で発症頻度が増加する。本研究では、SHRSP に高脂血症治療薬であるプラバスタチンを投与し、ステロイド誘発性大腿骨頭壊死の発症抑制の可能性を検証した。

対象と方法

(動物)

雄性 SHRSP/Izm を使用した。コントロール群 (C 群) (28 匹)、プラバスタチン投与群 (P 群) (23 匹)、ステロイド投与群(S 群) (14 匹)、プラバスタチン+ステロイド投与群(PS 群) (15 匹)の 4 群を作成した。15 週齢で、メチルプレドニゾロン 4 mg(約 15 mg/kg)を背部に皮下注した。プラバスタチンは、飲料水に混入し 15 mg/day/kg となるように 13 週齢から 4 週間投与した。

(酸化ストレス)

抗 8-OHdG と抗 4-HNE モノクローナル抗体を用いて免疫染色をした。客観的評価のために、3-point scale method を考案した。

(脂肪細胞占拠率)

大腿骨頭骨髄内の脂肪細胞占拠率を、H-E 組織画像の骨髄細胞と脂肪細胞を NIH image 用いて西田の計測方法で測定することで算出した。

(統計解析)

各群間の大腿骨頭壊死発症率は、generalized estimating equations (GEE)で検定した。血清生化学データと大腿骨頭骨髄の脂肪細胞占拠率は一般化線形モデル(分散分析)と Tukey 多重比較で検定した。

(倫理面への配慮)

本研究の動物実験は長崎大学の動物実験委員会が定めた規約に則って長崎大学先導生命科学
研究支援センター動物実験施設で行った。

結果

(体重と生化学所見)

ステロイド投与による体重減少は著明で、プラバスタチン投与でも体重は減少した。各群間で血圧の明らかな差異はみられなかった。ステロイド投与で高脂血症を呈し、T-chol、HDL、LDLとTG値がS群では上昇していた。PS群では、高脂血症改善効果は認めなかった。

(大腿骨頭壊死発生率)

大腿骨頭壊死発症率は、S群がC群に比較して有意に増加していた。S群と比較して、PS群では有意に減少していた。

(大腿骨頭骨髓脂肪細胞占拠率)

P群、C群、PS群、S群の順で脂肪細胞占拠率が高くなっていた。プラバスタチン投与で、占拠率が有意に20%減少した。

(大腿骨頭骨髓内の酸化ストレス)

ステロイド負荷により著増した脂肪細胞壁、骨髓球の8-OHdGと4-HNE染色性が、プラバスタチン処置で著明に減弱した。3-point methodの結果では、P群、C群、PS群、S群の順で酸化ストレスが増加した。ステロイド投与で増加した酸化ストレスが、プラバスタチン処置で有意に低下した。

考察

SHRSPのステロイド誘発性大腿骨頭壊死の発症をHMG-CoA還元酵素阻害薬であるプラバスタチンが抑制することを実験治療学的に明らかにした。大腿骨頭壊死の病因はいまだ明らかでない。今回の組織学的結果では、プラバスタチン投与で骨頭骨髓内の脂肪細胞占拠率が約20%抑制された。Liらは、骨髓内の脂肪細胞に関して、ロバスタチンはPPAR γ 2に作用することで脂肪細胞の分化を抑制すると報告している。

ステロイド投与による大腿骨頭の酸化ストレスの増加は免疫組織化学的に検証されている。近年、抗酸化ストレス剤が大腿骨頭壊死を抑制したという報告が多く成されている。血管病変に関しては、中村らと八尾らは酸化ストレスがSHRラットの血管内皮障害と虚血性変化を誘導することを明らかにした。大腿骨頭壊死発症に関連する酸化ストレスの第一義的な標的部位が、脂肪細胞か血管かは今後の研究課題である。今回の研究で、プラバスタチンは高脂血症改善効果を示さず脂肪細胞や血管の酸化ストレスを軽減したことを考えると、スタチンのpleiotropic effectとして今後の薬効解析が必要である。