

Title	Inducible Osteonecrosis in a Rabbit Serum Sickness Model : Deposition of Immune Complexes in Bone Marrow
Author(s)	中田, 活也
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39990">https://hdl.handle.net/11094/39990</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	中 田 活 也
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 13052 号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	Inducible Osteonecrosis in a Rabbit Serum Sickness Model : Deposition of Immune Complexes in Bone Marrow (ウサギ血清病モデルにおける骨壊死 : 骨髓内への免疫複合体の沈着)
論文審査委員	(主査) 教授 越智 隆弘  (副査) 教授 宮坂 昌之    教授 青笹 克之

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

特発性大腿骨頭壊死症は治療に難渋する原因不明の疾患であり、本邦においても厚生省により特定疾患に指定されている。本疾患は、発症時には既に大腿骨頭が圧潰し病期が進行している症例がほとんどである。そのため、臨床上で骨壊死発生前後の早期病態を捉えることは非常に困難であり、そのことが特発性大腿骨頭壊死症の原因解明が進まない大きな理由の一つとなっている。ステロイド剤投与などにより非侵襲的に骨壊死を発生させる目的で種々の実験が試みられてきたが、いずれも再現性よく骨壊死を発生させるには至らなかった。特発性大腿骨頭壊死症の病因解明のためには、再現性の良い動物モデルを利用し骨壊死発生前後の病態を探ることが有用であると考えられる。我々は、ウサギにウマ血清を2回静脈内投与して作成した血清病モデルの大腿骨に骨壊死が高率に発生することを報告した。本研究では、その血清病モデルを利用し、骨壊死発生前後の早期病態と骨壊死発生のメカニズムを検討することを目的とした。

#### 【方法】

成熟日本白色家兎109羽に非動化ウマ血清 (10ml/kg) を静脈内投与した。そのうち17羽は1回目の投与後3週間で屠殺し、残りの92羽には1回目の投与後3週間で2回目のウマ血清 (10ml/kg) を投与し、ウマ血清2回目静注後の1-4時間で17羽、4-12時間で17羽、12-24時間で17羽、24-72時間で21羽、7日で20羽を屠殺した。大腿骨全体を摘出し、4%パラホルムアルデヒド (pH7.4) にて1週間固定 (4℃) し、EDTA (pH7.4) を使用して4週間脱灰 (37℃) した後、パラフィンにて包埋した。薄切切片 (4 μm) を作製後、Hematoxylin and Eosin (H-E) 染色とPhosphotungstic acid hematoxylin (PTAH) 染色により組織学的検討を行なった。

また、ウマ血清2回目静注後48-72時間に屠殺したウサギ16羽において、Avidin - biotin peroxidase complex (ABC) 法によりウサギのIgGとC3・ウマのIgGを染色し、大腿骨骨髓内の免疫複合体の同定を行なった。一次抗体として、ビオチン標識ヤギ抗ウサギIgG抗体、ヤギ抗ウサギC3抗体および、ビオチン標識ヤギ抗ウマIgG (F(ab)<sup>2</sup>) 抗体を用い、ウサギC3に対する二次抗体としてビオチン標識ウサギ抗ヤギIgG抗体を用いた。

さらに、ウマ血清2回目静注後72時間以内に屠殺したウサギ40羽において、腎臓に沈着した免疫複合体を蛍光抗体法を用いて同定した。腎臓の凍結薄切切片 (7 μm) を作製し、ブロッキング後、室温で2時間抗体反応を行い、蛍光顕微鏡にて観察した。抗体にはFITC標識ラット抗ウサギIgGモノクローナル抗体とFITC標識ヤギ抗ウサギC3

抗体を使用した。

#### 【成績】

1) ウマ血清を1回目のみ投与しその後3週間経たウサギの大腿骨には、骨髄壊死、骨梁壊死、赤血球の漏出および細動脈内血栓のいずれも発生していなかった。

2) ウマ血清2回目静注後72時間以内の主要病変は、大腿骨骨髄内シヌソイドにおける赤血球の漏出、細動脈内血栓および腎臓/大腿骨骨髄内への免疫複合体の沈着であり、骨髄壊死や骨梁壊死は発生していなかった。赤血球漏出の頻度はウマ血清2回目静注後1-4時間で24%、その後徐々に頻度が増加し、24-72時間で43%となった。2回目静注後72時間以内で細動脈内の血球凝集は50%に認め、そのうち80%はPTAH染色で血栓と同定できた。細動脈内血栓の頻度は、1-4時間で35%、その後徐々に頻度は増加し、24-72時間で52%となった。赤血球漏出も細動脈内血栓も大腿骨近位骨幹端を中心に発生し、赤血球漏出を認めた大腿骨の86%に細動脈内血栓を認め、両者間には有意な相関関係があった。

3) ウマ血清2回目静注後7日で、大腿骨近位骨幹端を中心に骨壊死が発生し、その頻度は骨髄壊死45%、骨梁壊死30%であった。骨梁壊死は全例骨髄壊死を伴っていた。骨壊死が発生した大腿骨においては全例骨壊死近傍に赤血球漏出や細動脈内血栓の遺残が併発していた。

4) ABC法で同定された大腿骨骨髄内の免疫複合体は、主として大腿骨近位骨幹端のシヌソイドに沈着し、細動脈内腔、細動脈内皮下、細動脈周囲にも沈着していた。大腿骨骨髄内への免疫複合体の沈着があるものの67%に骨髄内の赤血球漏出が認められ、沈着がないものでは全例赤血球漏出の発生はなかった。骨髄内への免疫複合体の沈着と赤血球漏出とは有意な相関関係があった。

5) 蛍光抗体法によって腎臓の糸球体に免疫複合体の沈着を証明でき、腎臓への免疫複合体の沈着があるものの57%に骨髄内の赤血球漏出がみられ、腎臓への沈着がないものの79%では骨髄内の赤血球漏出も認めなかった。両者間には有意な相関関係があった。

#### 【総括】

本研究により、骨壊死発生に先立ち大腿骨骨髄内に赤血球の漏出や細動脈内血栓などの微小循環障害が発生することが明らかになった。また、骨髄内微小循環障害の発生部位と骨壊死の発生部位は一致していたこと、微小循環障害の発生部位では免疫複合体の沈着を証明できたこと、大腿骨骨髄内の微小循環障害と大腿骨骨髄内への免疫複合体の沈着とは有意な相関関係にあったことから、骨壊死発生に先立つ骨髄内微小循環障害には骨髄内への免疫複合体の沈着が関与していると考えられた。さらに、大腿骨骨髄内の微小循環障害は腎臓糸球体への免疫複合体の沈着とも有意な相関関係にあったことから、免疫複合体の沈着を契機とした全身性の免疫反応が、本系の骨髄内微小循環障害および骨壊死に関わっている可能性が高いと考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

特発性大腿骨頭壊死症は治療に難渋する原因不明の疾患であり、発症時には既に大腿骨頭が圧潰し病期が進行している症例がほとんどである。そのため、臨床上で骨壊死発生前後の早期病態を捉えることは非常に困難であり、そのことが特発性大腿骨頭壊死症の原因解明が進まない大きな理由の一つとなっている。従って、特発性大腿骨頭壊死症の病因解明のためには、再現性の良い動物モデルを利用し骨壊死発生前後の病態を探ることが有用であると考えられる。

本研究は、大腿骨に骨壊死が高率に発生するウサギ血清病モデルを利用し、骨壊死発生前後の早期病態を探求することを目的とした。その結果、骨壊死発生に先立ち大腿骨骨髄内に赤血球の漏出や細動脈内血栓などの微小循環障害が発生することが明らかになった。さらに、その早期病変に対する免疫組織学的検討により、骨髄内微小循環障害と腎臓および大腿骨骨髄内への免疫複合体の沈着とに相関関係があることも証明され、骨壊死発生に先立つ骨髄内微小循環障害には免疫複合体沈着が関与していることが示唆された。

以上より、本論文は特発性大腿骨頭壊死症の病因解明に多大な貢献をし、学位に値するものと認める。