

Table 4
Odds ratios for association of chronic *H. pylori* infection with ischemic stroke subtypes

	Unadjusted OR ^a			Adjusted OR ^b		
	OR	95% CI	P value	OR	95% CI	P value
Ischemic Stroke (all subtypes)	2.22	1.04–4.72	<i>P</i> < 0.05	2.57	1.09–6.08	<i>P</i> < 0.05
Stroke Subtypes						
Small artery occlusion	1.00		<i>P</i> < 0.05	1.00		<i>P</i> < 0.05
Large artery atherosclerosis	0.215	0.0430–1.07		0.215	0.0430–1.07	
Cardioembolic	0.137	0.0236–0.796		0.137	0.0236–0.796	

ORs and 95% CIs were calculated by conditional logistic regression analysis.

^a Matched for age and sex.

^b Matched for age, sex, smoking, hypertension, and diabetes.

findings are consistent with a positive association between chronic *H. pylori* infection and ischemic stroke caused by cerebral atherosclerosis. When stroke is defined as a non-homogeneous condition and stratified analysis of various stroke subtypes is performed, this often results in a small number of patients in each subgroup. Therefore, the lack of a significant association with large artery atherosclerosis needs further investigation in a larger population. Furthermore, it is possible that the apparent association of stroke with *H. pylori* infection was attributable to residual confounding factors related to socioeconomic status, although we tried to control them. This might be of particular relevance with regard to reports of *H. pylori* infection as a marker of lower socioeconomic status [24], which seems to be an independent risk factor for vascular disease [25].

4.3. Chronic *H. pylori* infection and mechanism of atherogenesis

In recent years, it has been hypothesized that only certain *H. pylori* strains, which express the cytotoxin-associated gene A (Cag A) encoding the Cag A protein, may have a link with atherosclerosis. Several mechanisms have been hypothesized, including inflammation, hyperhomocysteinemia, immune-mediated vascular damage, and direct bacterial invasion of atherosclerosis plaques [26]. Although we did not investigate antibody for Cag A protein, Maeda et al. have reported that most *H. pylori* strains in Japan are capable of producing Cag A protein [27]. Compared with *H. pylori*-negative patients, the *H. pylori*-positive patients showed more evidence of systemic inflammation (higher CRP levels), which gives some support to the hypothesis that *H. pylori* infection may induce generalized inflammation, a recognized risk factor for atherosclerosis [7]. The strong non-specific inflammatory response to acute tissue ischemia associated with stroke may well have minimized a pre-existing difference of chronic inflammation between the patients with and without *H. pylori* infection. Other mechanisms may also be suggested that could link infection with *H. pylori* to atherosclerotic stroke.

Amerisco et al. [26] recently reported that *H. pylori* might be present in carotid plaques because chronic *H. pylori* infection elicits a strong local inflammatory response; it is possible that the presence of bacteria may contribute to plaque insta-

bility and the onset of acute ischemic stroke through a local vascular effect.

In any case, our data suggest that infection with *H. pylori* represents a risk factor for the development of atherosclerotic stroke.

4.4. Limitations

The main limitation of the present study was its case-control design. Although care was taken to avoid potential biases, it is well known that prospective studies are often unable to confirm the associations detected in case-control studies, so further prospective studies are needed to confirm our findings.

In addition, the cross-sectional nature of the present study did not allow us to establish whether or not *H. pylori* played a causative role in atherosclerotic stroke. Furthermore, given the wide prevalence of *H. pylori* infection, it is possible that unknown factors having an independent association with both this organism and ischemic stroke may have produced a spurious association in our study. Finally, our control subjects were not representative of the general population and the enrollment criteria may have led to selection of a population with a low risk of *H. pylori* infection. However, it should be noted that the subjects with and without ischemic stroke showed almost identical rates of *H. pylori* infection.

5. Conclusion

The present study suggested that *H. pylori* infection might be associated with ischemic cerebrovascular disease due to an increased prevalence of this organism in patients with ischemic stroke. The pathophysiological mechanism underlying this association seems likely to be a chronic inflammatory response to bacterial infection.

Acknowledgment

We thank Naoko Kinukawa, M.S. (Department of Medical Information, Kyushu University Hospital) for assistance with the statistical analysis.

References

- [1] Danesh J, Collins R, Peto R. Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? *Lancet* 1997;350:430–6.
- [2] Lehmann ED. Clinical value of aortic pulse wave velocity measurement. *Lancet* 1999;354:528–9.
- [3] Asmar R, Benetos A, Topouchian J, et al. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement: validation and clinical application studies. *Hypertension* 1995;26:485–90.
- [4] Cohn JN. Vascular wall function as a risk marker for cardiovascular disease. *J Hypertens* 1999;17(Suppl 5):S41–4.
- [5] van Popele NM, Grobbee DE, Bots ML, et al. Association between arterial stiffness and atherosclerosis: the rotterdam study. *Stroke* 2001;32:454–60.
- [6] Yamashina A, Tomiyama H, Takeda H, et al. Validity, reproducibility, and clinical significance of noninvasive brachial-ankle pulse wave velocity measurement. *Hypertens Res* 2002;25:359–64.
- [7] Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115–26.
- [8] Adams Jr HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke: definitions for use in a multicenter clinical trial: TOAST: Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke* 1993;24:35–41.
- [9] Grau AJ, Bugge F, Lichy C, et al. *Helicobacter pylori* infection as an independent risk factor for cerebral ischemia of atherothrombotic origin. *J Neurol Sci* 2001;1(186):1–5.
- [10] Ghali WA, Quan H, Feasby TE. *Helicobacter pylori* and cerebrovascular disease. *Stroke* 2001;32:19–36.
- [11] Heuschmann PU, Neureiter D, Gesslein M, et al. Association between infection with *Helicobacter pylori* and *Chlamydia pneumoniae* and risk of ischemic stroke subtypes: results from a population-based case-control study. *Stroke* 2001;32:2253–8.
- [12] Ponzetto A, Marchet A, Pellicano R, et al. Association of *Helicobacter pylori* infection with ischemic stroke of non-cardiac origin: the BAT.MA.N. project study. *Hepatogastroenterology* 2002;49:631–4.
- [13] Pietroiusti A, Diomedì M, Silvestrini M, et al. Cytotoxin-associated gene-A-positive *Helicobacter pylori* strains are associated with atherosclerotic stroke. *Circulation* 2002;30(106):580–4.
- [14] Markus HS, Mendall MA. *Helicobacter pylori* infection: a risk factor for ischaemic cerebrovascular disease and carotid atheroma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;64:104–7.
- [15] Hatano S. Experience from a multicentre stroke register: a preliminary report. *Bull World Health Organ* 1976;54:541–53.
- [16] Von Reutern G-M, Budingen HJ. *Ultrasound Diagnosis in Cerebrovascular Disease*. Stuttgart, Germany/New York, NY: Georg Thieme Verlag; 1989.
- [17] De Bray JM, Glatt B. Quantification of atheromatous stenosis in the extracranial internal carotid artery. *Cerebrovasc Dis* 1995;5:414–26.
- [18] Bartels E. Vertebral sonography. In: Tagler CH, Babikian VL, Gomez CR, editors. *Neurosonology*. St. Louis, MO: Mosby; 1996. p. 83–100.
- [19] Pius H, Christoph B. Nondisperative infrared spectrometry: a new method for the detection of *Helicobacter pylori* with the ¹³C-urea breath test. *Clin Infect Dis* 1997;25.
- [20] Ohara B, Kato M, Asaka M, Toyota T. The UbiT-100¹⁶CO₂ infrared analyzer: comparison between infrared spectrometric analysis. *Helicobacter* 1998;3:49–53.
- [21] Fisher CM. Lacunar strokes and infarcts: a review. *Neurology* 1982;32:871–6.
- [22] Yamashita A, Tomiyama H, Takeda K, et al. Validity, reproducibility, and clinical significance of non invasive brachial-ankle pulse wave velocity measurement. *Hypertens Res* 2002;25:359–64.
- [23] Schmal M, Marini C, Carolei A, et al. Different vascular risk factor profiles among cortical infarcts, small deep infarcts, and primary intracerebral haemorrhage point to different types of underlying vasculopathy: a study from the L'Aquila Stroke Registry. *Cerebrovasc Dis* 1998;8:14–9.
- [24] Patel P, Mendall MA, Carrington D, et al. Association of *Helicobacter pylori* and *Chlamydia pneumoniae* infections with coronary heart disease and cardiovascular risk factors. *BMJ* 1995;311:711–4.
- [25] Salomaa V, Niemela M, Miettinen H, et al. Relationship of socioeconomic status to the incidence and prehospital, 28-day, and 1-year mortality rates of acute coronary events in the FINMONICA myocardial infarction register study. *Circulation* 2000;101:1913–8.
- [26] Ameriso SF, Fridman EA, Leiguarda RC, Sevlever SE. Detection of *Helicobacter pylori* in human carotid atherosclerotic plaques. *Stroke* 2001;32:385–91.
- [27] Maeda S, Kanai F, Ogura K, et al. High seropositivity of anti-CagA antibody in *Helicobacter pylori*-infected patients irrelevant to peptic ulcers and normal mucosa in Japan. *Dig Dis Sci* 1997;42:1841–7.

Topics

3. わが国のステロイド性骨粗鬆症の管理および治療ガイドライン

高柳 涼一*

KEY WORD

ステロイド性骨粗鬆症
ガイドライン
ビスホスホネート
既存脆弱性骨折
骨密度

POINT

- わが国初のステロイド性骨粗鬆症に対する管理と治療のガイドライン(2004年版)が策定された。
- ステロイドを3カ月以上投与中あるいは投与予定の患者が以下のいずれかに該当する場合、薬物治療を開始する。①既に脆弱性骨折がある、あるいは、ステロイド治療中に新規骨折を来したとき、②骨密度が80%(YAM値)未満のとき、③1日平均投与量がプレドニゾン換算で5mg以上のとき。
- 薬物治療は第1にビスホスホネート製剤を使用する。重症の場合はビスホスホネート製剤に活性型ビタミンD₃を併用する。ビスホスホネートが使用できないとき、第2選択薬として、活性型ビタミンD₃あるいはビタミンK₂を使用する。

0387-1088/05/4500/論文/JCLS

はじめに

ステロイド(グルココルチコイド)の副作用で最も頻度が高いものが骨粗鬆症であるが、ステロイド性骨粗鬆症は、以前は有効な治療法がないため、あるいは、原病の治療による生命予後の改善を優先し、顧みられないことも多かった。しかしながら、ビスホスホネートを中心としたステロイド性骨粗鬆症に有効な薬剤が臨床の場に登場してきた今日、ステロイド投与を必要とする患者においては、骨粗鬆症発症に伴う骨折

の予防対策は必須のものとなっている。ステロイド性骨粗鬆症の深刻さが認識されたのは、1996年の米国リウマチ学会の調査で米国の骨粗鬆症患者の20%(200万人)がステロイド性骨粗鬆症であり、ステロイド長期投与者の25%が骨折を患っていたという高頻度の骨折発症が明らかになってからである。英国でも成人総人口の0.9%(約40万人)が長期にステロイドを服用しているとの調査結果が2000年に報告された。わが国の実態は不明であるが、中長期のステロイド投与の適応となる疾患患者数は60~100万人に上ると推定される。ステロイド性骨粗鬆症への対応の重要性が認識された欧米では、1996年よりその管理ガイドラインが発

*たかやなぎ りょういち：九州大学大学院医学研究科老年医学

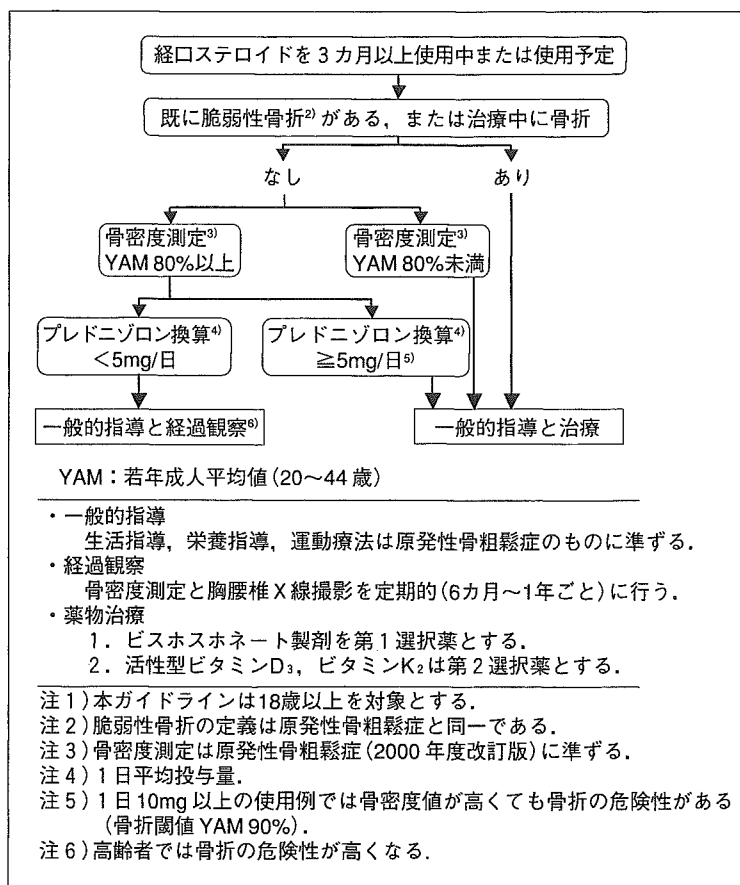


図1 ステロイド性骨粗鬆症の管理と治療のガイドライン¹⁾(2004年版)
(文献7より引用)

表され、その改訂も行われてきた¹⁻⁶⁾。

わが国では日本骨代謝学会内の「ステロイド性骨粗鬆症診断基準検討小委員会」において、2004年にわが国初の「ステロイド性骨粗鬆症に対する管理と治療のガイドライン」が策定された⁷⁾。本稿では、本ガイドラインについて最近の海外のメタ解析を含めて解説する。

ステロイド性骨粗鬆症の管理と治療のガイドライン(2004年版)(図1)

1. 治療開始の基準

本ガイドラインは骨折リスクの重みの高い順に、3つの基準で薬物治療の開始基準を規定している。さらに、使用すべき治療薬に言及して

いるのも特徴の1つで、骨粗鬆症の専門医以外にも使いやすいように工夫がなされている。全国の協力施設から集計された症例の解析に加えて、田中らによるステロイド投与例の2年間の追跡調査の解析結果⁸⁾が参考とされた。

図1に示すように、経口ステロイドを既に3カ月以上投与した例やこれから新たに3カ月以上投与する例を対象としている。静注ステロイドや18歳未満の者は対象としていない。これは利用可能なエビデンスがないためである。ヒトのステロイド性骨粗鬆症は、ステロイド投与初期の3～6カ月は急激に骨量が減少し、その後は緩やかな減少に移行する2相性を示すことが経験的に知られていた。最近の多数例のメタ解析の結果、経口ステロイド投与開始後3～6

カ月で新規椎体骨折発生率は最大となり、以後ほぼ一定となることが明らかになり⁹⁾、3カ月以上投与する例が対象とされた。

薬物療法の開始基準としてまず第一に、既に脆弱性骨折がある場合やステロイド投与開始時にはなくても途中で骨折が発生した場合を挙げている。これは縦断解析で様々なリスク因子を検討した結果、脆弱性骨折の存在が新規骨折発生の最大の危険因子だったからである^{7, 8)}。

次に、脆弱性骨折がない場合、骨密度を測定し(測定は原発性骨粗鬆症¹⁰⁾に準じ、腰椎骨密度を原則とする)、YAM値が80%未満の場合、治療を開始する。ステロイド性骨粗鬆症では、原発性骨粗鬆症に比べ高い骨密度で骨折することが予想されるが、どの程度の骨密度が骨折と非骨折の分岐点となるのかを見出すことは重要である。委員会で集積された症例の解析および田中らの縦断解析で類似のカットオフ値が得られ、YAM80%が薬物療法を考えるべき1つの判断基準となった。原発性骨粗鬆症のカットオフ値(診断基準)が%YAMで70%なので、ステロイド骨粗鬆症はそれよりも10%高いことになる。

さて、骨折もなく骨密度もYAM80%以上の場合、次の基準としてプレドニゾロン換算で1日の平均ステロイド使用量が5 mg以上のときは、薬物療法に入ることが推奨されている。この値に関しては、統一の見解が世界的に出されていないわけではないが、最近の海外のガイドラインでステロイド量を示しているものでは5 mg/日となっている¹¹⁾。また、Van Staaらの多数例のメタ解析では、5 mg/日を骨折リスク上昇の1つの分岐点と報告している⁹⁾。なお、骨折リスクは使用ステロイド量が増えれば、当然高くなるし、高齢者は骨折リスクが高いので、これらの点は注意する必要がある。骨折もなく、骨密度もYAM80%以上、投与ステロイド量も1日5 mg未満の場合、経過観察となるが、ステロイド投与例は非投与例に比べ骨折の危険率が高いので、6カ月あるいは1年ごとの骨密度測定と胸腰椎X線撮影による経過観察が必要である。

2. 薬物療法

ステロイド性骨粗鬆症においても原発性骨粗鬆症と同様に、ライフスタイルの改善や栄養指導、運動療法は必要である。ビスホスホネートは、海外や国内でprospective randomized control trial(RCT)による臨床試験によりステロイド性骨粗鬆症による骨折を有意に抑制するエビデンスが存在するので¹¹⁾、第1選択薬として推奨された。ビスホスホネートには劣るが、活性型ビタミンD₃とビタミンK₂は骨折予防効果が示された^{8, 12)}ので、第2選択薬として提案された。ステロイド投与例において、ビスホスホネートに活性型ビタミンD₃を併用すると、ビスホスホネート単独に比べ、骨密度増加作用が高いことが報告されているが、骨折抑制率については明らかではない。

ステロイド性骨粗鬆症における骨強度の評価と治療

1. 骨強度とステロイド

骨粗鬆症は2001年に、様々な原因で骨強度が低下し骨折しやすくなった病態であり骨強度は骨密度に加えて骨質(bone quality)により決定されると定義された¹³⁾。骨質は、骨密度では表せない骨の微細構造、代謝回転、マトリックスの質などの因子の総和と考えられるが、これを日常臨床の場で評価する指標は現在のところ存在しない。原発性骨粗鬆症の代表である閉経後骨粗鬆症は、骨強度の規定因子の中の骨密度でその骨折リスクをおおよそ推測できる基本データが得られている。いい換えれば、主に骨密度で骨折リスクの予想ができる。一方、ステロイド性骨粗鬆症では同一の骨密度でもその骨折リスクは原発性のものより明らかに高く、最近のメタ解析では骨密度で補正してもステロイド使用経験者は骨折リスクが1.6~2.3倍高いと報告された¹⁴⁾。このことはステロイド性骨粗鬆症においては、骨密度が必ずしも骨強度を反映できないことを示している。すなわち、ステロイドは骨密度を低下させると同時に骨質に大きなダメージを与えると考えられ、その結果、ステ

表1 ステロイド使用経験者の骨折リスクに関するメタ解析

補正項目	非ステロイド使用者との Risk Ratio (95%CI)		
	全骨折	骨粗鬆症性骨折	大腿骨頸部骨折
骨密度	1.57 (1.37~1.80)	1.66 (1.42~1.92)	2.25 (1.60~3.15)
関節リウマチ	1.68 (1.40~2.01)	1.80 (1.47~2.20)	2.30 (1.50~3.55)

7つのコホート研究参加者 42,542 名についてステロイドを過去に使用した、あるいは現在使用中のものと非使用者の骨折リスクを前向き研究で解析(文献 14 より改変引用)。

ロイド投与例では原発性骨粗鬆症例に比し、同一骨密度でも骨折リスクがより増大する。ステロイドの骨質低下作用の詳細は明らかではないが、ステロイドは様々な分子機構で骨形成を抑制することが明らかにされている。Kanis らによる最近のメタ解析では¹⁴⁾、関節リウマチ患者の間でも、ステロイドは骨折リスクを高め(表 1)、ステロイド使用そのものが、骨密度や既存骨折とは独立した大きな危険因子であることを示している。これらの結果は、今回策定されたわが国のステロイド性骨粗鬆症のガイドラインの治療基準が、既存脆弱性骨折、骨密度、ステロイド使用量で規定されていることとよく一致している。

さて、少量のステロイド(<7.5 mg/日)使用と骨粗鬆症の発症についてはこれまで相反する報告もあったが、これは主に過去の研究の多くが判定のエンドポイントに骨密度を使っていたためと考えられる。骨密度をエンドポイントとして、ステロイド性骨粗鬆症を完全には評価できないことは前述のとおりである。骨密度を判定基準とする研究結果より、少量のステロイドでは骨粗鬆症を発症させることはないとする意見があり、これを根拠として少量のプレドニゾロンは多くの疾患に対して繁用されてきた。これに対して、Van Staa らがメタ解析によりプレドニゾロン換算 2.5 mg/日からでも骨折のリスクが上昇する結果を得たことは画期的成果であった⁹⁾。最近 Ton らは、5 mg/日のプレドニゾロンの 6 週間の使用が骨代謝マーカーに与える影響を、閉経後の健常人で厳密に検討した¹⁵⁾。骨基質の主要構成成分である I 型コラーゲンの産生指標である PIPc や、骨基質の構成成分の

一部をなすオステオカルシンなどの骨形成マーカーは、5 mg/日のプレドニゾロン投与により鋭敏に低下し、プレドニゾロンの中止により 2 週間後には回復した。以上の結果は、少量のプレドニゾロンで骨形成が鋭敏に抑制されることを示しており、少量のステロイドでも骨質が強く影響を受けることが推測される。

2. ビスホスホネートによる治療

国外の RCT では 1~2 年間のビスホスホネート投与により、約 70% の椎体骨折抑制率を示している。原発性骨粗鬆症による骨折の抑制率が 3 年以上の投与で約 50% であることを考慮すると、ビスホスホネートはステロイド性骨粗鬆症に対する効果がより顕著であり、現時点での特効薬といえる。

さて、ビスホスホネートは本来、破骨細胞にアポトーシスを惹起する特異的骨吸収抑制薬である。したがって、相対的に骨吸収優位となる急性期に効果があることは理解できるが、骨形成の低下が主体である慢性期に投与しても臨床的に効果がある事実が説明し難い。その理由は現在も不明であるが、慢性期の低骨代謝回転の時期でも骨形成の極端な低下に比し、骨吸収の抑制の程度が軽く相対的に骨吸収優位であるとする考え方と、ビスホスホネートが骨芽細胞と骨細胞のアポトーシスを抑制するとの報告があり¹⁶⁾、骨吸収抑制以外のビスホスホネートの効果による可能性がある。ステロイド性骨粗鬆症の病態と骨折リスクの時相的变化を考慮すると、ビスホスホネートによるステロイド性骨粗鬆症の治療開始時期はステロイド投与前が理想的で、少なくとも同時期にはすべきと考えられる。

おわりに

ステロイド性骨粗鬆症の発症機構と管理と治療のガイドラインについて概説した。わが国および欧米のステロイド性骨粗鬆症の管理ガイドラインはすべて、経口ステロイドを対象に原疾患に対して最大公約数的に策定されている。しかしながら、同じステロイドでも原疾患により、使用されるステロイド量は1日0.5 mgから60 mg プレドニゾンまで大きく異なっており、当然骨折リスクの程度も異なる。また、パルス療法に対する検討はほとんどなされていない。小児のステロイド性骨粗鬆症や成長障害に対しても未検討である。このように本ガイドラインは、今後新たなエビデンスの集積による検証と改訂が期待される。

文 献

- 1) American College of Rheumatology Task Force on Osteoporosis Guidelines. Recommendations for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Arthritis Rheum* **39** : 1791-1801, 1996.
- 2) Eastell R et al : A UK Consensus Group on management of glucocorticoid-induced osteoporosis: an update. *J Intern Med* **244** : 271-292, 1998.
- 3) Adachi JD et al : Management of corticosteroid-induced osteoporosis. *Semin Arthritis Rheum* **29** : 228-251, 2000.
- 4) American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. Recommendations for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis: 2001 Update. *Arthritis Rheum* **44** : 1496-1503, 2001.
- 5) Brown JP and Josse RG : Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. *CMAJ* **167** : 1S-34S, 2002.
- 6) Bone and Tooth Society, National Osteoporosis Society, Royal College of Physicians. *Glucocorticoid-induced osteoporosis : guidelines for prevention and treatment*, Royal College of Physicians, London, 2002.
- 7) Nawata H et al : Guidelines on the management and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis of The Japanese Society for Bone and Mineral Research (2004 edition). *J Bone Miner Metab* **23** : 105-109, 2005.
- 8) 田中郁子, 大島久二 : ステロイド性骨粗鬆症の診断と治療に関する縦断研究 : 診断・治療指針への予備的検討. *Osteoporosis Jpn* **11** : 11-14, 2003.
- 9) Van Staa TP et al : The epidemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a meta-analysis. *Osteoporos Int* **13** : 777-787, 2002.
- 10) 折茂 肇ほか : 原発性骨粗鬆症の診断基準 (2000年度改訂版). *日骨代謝誌* **18** : 76-82, 2001.
- 11) 高柳涼一ほか : ステロイド骨粗鬆症の病態と治療指針. *CLINICAL CALCIUM* **13** : 134-140, 2003.
- 12) de Nijs RN et al : Prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis with active vitamin D₃ analogues: a review with meta-analysis of randomized controlled trials including organ transplantation studies. *Osteoporos Int* **15** : 589-602, 2004.
- 13) NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis: Prevention, Diagnosis, and Therapy. *JAMA* **285** : 785-795, 2001.
- 14) Kanis JA et al : A meta-analysis of prior corticosteroid use and fracture risk. *J Bone Miner Res* **19** : 893-899, 2004.
- 15) Ton FN et al : Effects of Low-Dose Prednisolone on Bone Metabolism. *J Bone Miner Res* **20** : 464-470, 2005.
- 16) Plotkin LI et al : Bisphosphonates and estrogens inhibit osteocyte apoptosis via distinct molecular mechanisms downstream of extracellular signal-regulated kinase activation. *J Biol Chem* **280** : 7317-7325, 2005.

(執筆者連絡先) 高柳涼一 〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出 3-1-1 九州大学大学院医学研究院老年医学

多嚢胞性卵巣症候群

大中佳三 高柳涼一

Polycystic ovary syndrome

Keizo Ohnaka, Ryoichi Takayanagi

Department of Geriatric Medicine, Graduate School of Medical Sciences,
Kyushu University

Abstract

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is an endocrine disorder characterized by chronic anovulation, hyperandrogenism and polycystic change in ovary. Hyperinsulinemia is so often accompanied with PCOS that insulin resistance may play important roles in pathogenesis of PCOS. Recent studies reported the effectiveness of insulin-sensitizing drugs on treatment of patients with PCOS. Thiazolidinedione, an agonist of PPAR γ receptor, improves not only insulin sensitivity but also hyperandrogenism and ovulatory dysfunction in patients with PCOS. Insulin-sensitizing drugs such as thiazolidinediones are expected to be a novel therapy for PCOS, although further studies on the effectiveness and safety should be required.

Key words: polycystic ovary syndrome (PCOS), insulin resistance, PPAR γ , thiazolidinedione, insulin-sensitizing drug

はじめに

多嚢胞性卵巣症候群 (polycystic ovary syndrome: PCOS) は、月経異常、高アンドロゲン血症、卵巣の多嚢胞性変化などを特徴とする症候群である。しばしばインスリン抵抗性を伴い、PCOS の病因との関連が注目されている。近年、PCOS の治療にインスリン抵抗性を改善する PPAR γ 受容体のアゴニストであるチアゾリジン誘導体が有用であることが報告された。

本稿ではその臨床成績を中心に概説する。

1. 多嚢胞性卵巣症候群 (PCOS) の病態とインスリン抵抗性

PCOS は無月経、多毛、肥満および両側卵巣の嚢胞性腫大を呈する疾患として、1935年 Stein と Leventhal により報告されたが、今日では多彩な症状と全身的な内分泌異常を呈する症候群と考えられている。日本産婦人科学会の PCOS 診断基準 (1993年)¹⁾ では、①月経異常 (無月経、稀発月経、無排卵周期症など)、②LH の基礎分泌値高値、FSH は正常範囲、③超音波断層検査で多数の卵胞の嚢胞状変化が認められること、の3つの必須項目を満たす場合、

PCOS と診断している (表 1)。

PCOS の明らかな原因はいまだ不明であるが、図 1 のような発症機序が考えられている。従来より、PCOS においては視床下部でのドパミン低下や GnRH 増加により、下垂体からの LH 分泌が過剰となり、高 LH 血症により卵巣での内荏膜細胞の増殖・機能亢進の結果、高アンドロゲン血症が起こるとされる。一方、PCOS はインスリン抵抗性をしばしば合併し、その病因として注目されるようになった²⁾。インスリン抵抗性による代償性高インスリン血症は、直接あるいは肝での IGFBP や SHBG の低下を介して卵巣に作用し、高アンドロゲン血症をもたらす。高インスリン血症は卵巣内荏膜細胞に存在するアンドロゲン合成の律速酵素である cytochrome P450c17 α の活性を亢進させる結果、高アンドロゲン血症を起こす。Meirow ら³⁾は PCOS をインスリン抵抗性の有無により 2 群に分類し、臨床的、内分泌学的所見が大きく異なることを報告している。インスリン抵抗性の有無で病態が異なり、治療への反応にも差が出るのではないかと推察される。

2. インスリン抵抗性改善薬による PCOS の治療

PCOS の治療は、排卵障害、挙児希望、多毛などの主訴や年齢によって治療目標が異なってくる⁴⁾。挙児希望のない排卵障害の場合、黄体ホルモンやピルで消退出血を誘発する。挙児希望がある場合、薬物療法としてクロミフェンが第一選択であり、ほかにゴナドトロピン療法、GnRH パルス療法など、外科治療として腹腔鏡下電気焼灼術やレーザー蒸散術などが行われる。クロミフェンは単独では排卵や妊娠率がやや低く、ゴナドトロピンでは卵巣過剰刺激症候群が問題となる。

近年、PCOS の病態にインスリン抵抗性の関与が考えられることより、PCOS の原因療法としてインスリン抵抗性を改善させる薬剤による治療が試みられるようになった。メトホルミンなどのビグアナイド系薬剤による治療については他の総説⁵⁾などを参照していただき、ここで

は PPAR γ 受容体のアゴニストであるチアゾリジン誘導体の成績 (表 2) について述べる。

a. トログリタゾン

Dunaif ら⁶⁾は 1996 年、チアゾリジン誘導体の一つであるトログリタゾンの PCOS 症例での有効性を初めて報告した。25 例の高度肥満 (BMI = 42.9) の PCOS 患者に無作為に 1 日 200 mg または 400 mg のトログリタゾンを 3 カ月間投与したところ、BMI の変化を伴わず、空腹時および 75 g ブドウ糖負荷後のインスリン値の減少、糖負荷に対するインスリン反応総量の減少とインスリン感受性の増加を認めた。非 SHBG 結合テストステロン、DHEA-S、エストラジオール、エストロン値の減少もみられた。ステップワイズ回帰解析において非 SHBG 結合テストステロンがブドウ糖負荷時のインスリン反応の低下と有意に相関していた。2 人に排卵性月経が認められた。

Ehrmann ら⁷⁾も 1997 年、13 例の肥満と耐糖能障害を有する PCOS 女性に 400 mg/日のトログリタゾンを 3 カ月間投与した成績を報告した。BMI や体脂肪分布に変化なく、糖代謝異常とホルモン異常の改善を認めた。

Mitwally ら⁸⁾はクロミフェン抵抗性の PCOS 不妊例 (18 例) に対し、トログリタゾン単独あるいはクロミフェン併用の治療効果を検討した。全治療周期 (66 周期) 中、67% に排卵と 11% に妊娠を認め、18 例中 15 例 (83%) に排卵と 7 例 (39%) に妊娠という結果を得ている。

2001 年には PCOS/Troglitazone Study Group により、410 例の閉経前 PCOS 女性に、プラセボまたはトログリタゾン (1 日当たり 150 mg, 300 mg, 600 mg の 3 つの用量) を無作為に 44 週間投与した多施設共同研究の成績が報告された⁹⁾。解析できた 305 例において、プラセボ群に比べてトログリタゾン 300 mg/日群と 600 mg/日群で排卵率は有意に高かった。試験期間中の妊娠は、プラセボ群 3 例、トログリタゾン群 13 例で、プラセボ群とトログリタゾン 150 mg/日群に比べて、トログリタゾン 300 mg/日群と 600 mg/日群で有意に高かった。また多毛の程度をあらわす Ferriman-Gallway score は、トログリタゾ

表1 多嚢胞性卵巣症候群の診断基準¹⁾

- I. 臨床症状
- ① 月経異常(無月経, 稀発月経, 無排卵周期症など)
 2. 男性化(多毛, にきび, 低声音, 陰核肥大)
 3. 肥満
 4. 不妊
- II. 内分泌検査所見
- ① LHの基礎分泌値高値, FSHは正常範囲
 2. LHRH負荷試験に対し, LHは過剰反応, FSHはほぼ正常反応
 3. エストロン/エストラジオール比の高値
 4. 血中テストステロンまたは血中アンドロステンジオンの高値
- III. 卵巣所見
- ① 超音波断層検査で多数の卵胞の嚢胞状変化が認められる
 2. 内診または超音波断層検査で卵巣の腫大が認められる
 3. 開腹または腹腔鏡で卵巣の白膜肥厚や表面隆起が認められる
 4. 組織検査で内莖膜細胞層の肥厚・増殖, および間質細胞の増生が認められる

注) 以上の各項目のうち○印をつけた項目を必須項目として, それらのすべてを満たす場合を多嚢胞性卵巣症候群とする. そのほかの項目は参考項目として, 必須項目のほかに参考項目をすべて満たす場合は典型例とする.

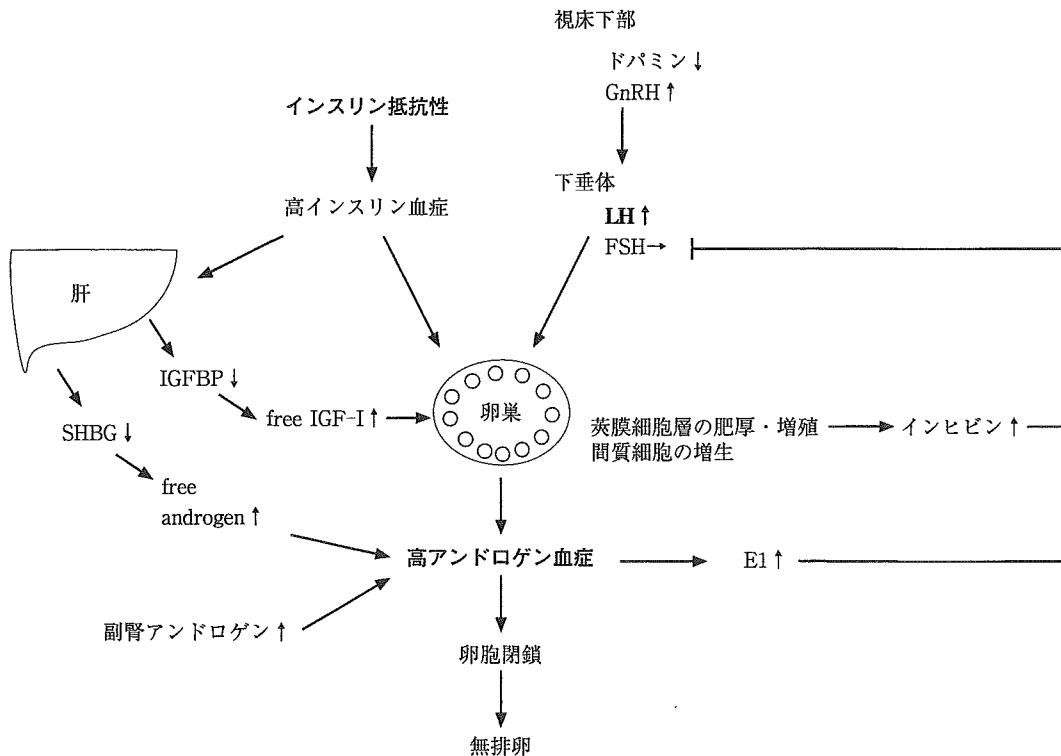


図1 PCOSの発症機序とインスリン抵抗性

表 2 チアゾリジン誘導体による PCOS 治療の試み

報告	研究方法 (n)	平均 BMI	使用用量(/日) (投与期間)	臨床効果				
				糖代謝 異常	ホルモン 異常	多毛	排卵 障害	妊娠
トログリタゾン								
Dunaif(1996)	R(25)	42.9	200/400 mg (12 週)	+	+		+	
Ehrmann(1997)	O(13)	39.9	400 mg (12 週)	+	+			
Mitwally(1999)	O(18)	36.3	400 mg +CC (1-5 周期)				+	+
Hasegawa(1999)	O(13)	28.7	400 mg (12 週)	+	+		+	
Azziz(2001)	RC(410)	35.3-37.9	0/150/300/600 mg (44 週)	+	+	+	+	+
ピオグリタゾン								
Romualdi(2003)	O(18)	31.8	45 mg (6 カ月)	+	+	+	+	
Glueck(2003)	O(13)	38.6	45 mg (10 カ月)	+	+		+	
ロシグリタゾン								
Shobokski(2003)	R(50)	27.9	0/4 mg+CC (12 週)	+	+		+	
Ghazeeri(2003)	RC(50)	35.5-38.5	4 mg+CC/P (12 週)	+	+		+	+

R: randomized, O: observational, RC: randomized, placebo-controlled.

CC: clomiphene citrate, P: placebo.

+: 有効.

ン群で用量に関連して減少する傾向を示し、600 mg/日群ではプラセボ群と比べ有意の低下がみられた。糖代謝マーカーの改善とともに、トログリタゾン群で血中遊離テストステロンの低下と SHBG の増加が用量に関連して認められた。肝機能障害を含む副作用の発現率に各群間で差はなかった。

我が国でも Hasegawa ら¹⁰⁾が、インスリン抵抗性を示す 13 例の PCOS 症例でのトログリタゾンの効果を検討している。トログリタゾン 400 mg/日の 12 週間投与により、空腹時インスリン、LH、テストステロン値の低下と糖・脂質代謝の改善を認めた。治療前は、クロミフェンによる排卵率が 34.9%であったが、トログリ

タゾン+クロミフェンにより 72.7%に向上し、トログリタゾン単独でも 42.3%であったという。クロミフェンに反応しない PCOS 例ではインスリン抵抗性を示すことが多く、インスリン抵抗性を有する場合のチアゾリジン誘導体の有用性を述べている。

これらの結果はいずれも、トログリタゾンが PCOS のインスリン抵抗性とホルモン異常を是正し、排卵障害を改善する新しい治療薬として期待させるものであった。しかし、トログリタゾンは肝機能障害の副作用のため現在発売中止となっている。

b. ピオグリタゾン

別のチアゾリジン誘導体であるピオグリタゾ

ンのPCOS症例への投与成績が最近報告された。ピオグリタゾンは我が国では現在唯一使用可能なチアゾリジン誘導体の薬剤である。Romualdiら¹³⁾は、肥満PCOS症例18例にピオグリタゾン45mg/日を6カ月間投与し、高インスリン血症の有無で結果を比較している。インスリン分泌、インスリン感受性と内分泌学的異常(LH値、LH/FSH比、アンドロステンジオン、17-ヒドロキシプロゲステロン)の改善は両群で認められたが、高インスリン血症群の方がより顕著であり、月経周期の回復率も高インスリン血症群(83%)の方が正常インスリン血症群(33%)に比べて高いことが報告された。

Glueckら¹²⁾は、メトホルミン+食事療法に反応しない肥満PCOS症例13例にピオグリタゾン45mg/日を10カ月間追加投与した成績を報告した。メトホルミン単独投与時期に比べ、糖代謝異常、ホルモン異常の改善に加え、排卵障害の改善を認め、ピオグリタゾン併用の効果を述べている。

c. ロシグリタゾン

ロシグリタゾンは我が国では未発売であるが、最近、海外での成績が報告された。Shobokshiら¹³⁾は、50例の肥満PCOS症例をクロミフェン単独群とクロミフェン+ロシグリタゾン(4mg/日)群に分け、3カ月間の投与成績を報告した。月経の周期化率はロシグリタゾン併用群が72%と、単独群(48%)より高かった。ロシグリタゾン併用群ではインスリン分泌の低下、LH値、LH/FSH比、遊離テストステロン値の

低下とIGF-1/IGFBP-3比の低下、IGFBP-3値の増加をより顕著に認め、卵巣でのIGF-1のbioavailabilityの低下によりインスリン抵抗性の改善がもたらされるためと推察している。

一方、Ghazeeriら¹⁴⁾はクロミフェン抵抗性のPCOS症例にロシグリタゾン(4mg/日)+偽薬あるいはロシグリタゾン+クロミフェン(各25例)の無作為比較試験を行った。排卵率は単独群33%、併用群77%で、妊娠はそれぞれ1例と2例であった。ロシグリタゾンは自発ならびにクロミフェン誘発の排卵促進に有効であると結論した。

ピオグリタゾンやロシグリタゾンに関しては、今後更に多数例でのランダム研究の検討が必要であろう。

おわりに

チアゾリジン誘導体によるPCOSの治療は、インスリン抵抗性を改善させて、ホルモン異常を是正し排卵を正常化させるという原因療法として大変注目される。クロミフェン抵抗例での使用やクロミフェンとの併用により排卵障害の治療成績の向上も期待される。インスリン抵抗性のあるPCOS例では、糖尿病や心・血管系リスクの予防の観点から、望ましい薬剤といえる。一方で、トログリタゾンは副作用のため現在発売が中止され、またピオグリタゾンやロシグリタゾンは妊婦での安全性が確立されておらず、副作用も含めて今後慎重なる検討が必要なることを強調したい。

■ 文 献

- 1) 杉本 修ほか：生殖・内分泌委員会報告[本邦婦人における多嚢胞性卵巣症候群の診断基準設定に関する小委員会(平成2年度-平成4年度)検討結果報告]。日産婦誌 45: 1359-1367, 1993.
- 2) Dunaif A: Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. Endocr Rev 18: 774-800, 1997.
- 3) Meirrow D, et al: Insulin resistant and non-resistant polycystic ovary syndrome represent two clinical and endocrinological subgroups. Hum Reprod 10: 1951-1956, 1995.
- 4) 深谷孝夫：多嚢胞性卵巣症候群の取り扱い。日産婦誌 55: N302-N307, 2003.
- 5) Sattar N, et al: Insulin-sensitising agents in polycystic-ovary syndrome. Lancet 351: 305-307, 1998.
- 6) Dunaif A, et al: The insulin-sensitizing agent troglitazone improves metabolic and reproductive abnormalities in the polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab 81: 3299-3306, 1996.

- 7) Ehrmann DA, et al: Troglitazone improves defects in insulin action, insulin secretion, ovarian steroidogenesis, and fibrinolysis in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* **82**: 2108-2116, 1997.
- 8) Mitwally MF, et al: High ovulatory rates with use of troglitazone in clomiphene-resistant women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* **14**: 2700-2703, 1999.
- 9) Azziz R, et al: Troglitazone improves ovulation and hirsutism in the polycystic ovary syndrome: a multicenter, double blind, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* **86**: 1626-1632, 2001.
- 10) Hasegawa I, et al: Effect of troglitazone on endocrine and ovulatory performance in women with insulin resistance-related polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* **71**: 323-327, 1999.
- 11) Romualdi D, et al: Selective effects of pioglitazone on insulin and androgen abnormalities in normo- and hyperinsulinaemic obese patients with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* **18**: 1210-1218, 2003.
- 12) Glueck CJ, et al: Pioglitazone and metformin in obese women with polycystic ovary syndrome not optimally responsive to metformin. *Hum Reprod* **18**: 1618-1625, 2003.
- 13) Shobokshi A, Shaarawy M : Correction of insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome by combined rosiglitazone and clomiphene citrate therapy. *J Soc Gynecol Investig* **10**: 99-104, 2003.
- 14) Ghazeeri G, et al: Effect of rosiglitazone on spontaneous and clomiphene citrate-induced ovulation in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* **79**: 562-566, 2003.

ステロイド性骨粗鬆症：病態と治療の Update 1

ステロイド性骨粗鬆症発症の新機構

ーグルココルチコイドによる Wnt シグナルの抑制ー

九州大学大学院医学研究院老年医学

大中佳三 高柳涼一

はじめに

長期間のグルココルチコイド投与によって誘発されるステロイド性骨粗鬆症は、続発性骨粗鬆症のうち最も頻度が高く、ステロイド療法の深刻な問題である。グルココルチコイドによる骨量減少の発症機序には、グルココルチコイドの骨組織に対する直接作用と Ca 代謝の変化や下垂体からのホルモン分泌抑制を介した間接的な作用が想定されているが、前者、なかでも骨形成への影響が最も重要と考えられる^{1,2)}。ここでは近年、骨形成の新しい制御系として注目される Wnt/LRP5 シグナル系^{3,4)} に対するグルココルチコイドの作用についての成績を紹介する。

1 Wnt シグナルと骨形成

分泌性糖蛋白である Wnt は、形態形成や細胞の極性決定など発生の過程で重要な役割を担う成長因子の一つである。Wnt は細胞膜表面の7回膜貫通型受容体 Frizzled と co-receptor である LDL receptor-related protein (LRP) 5/6 に結合して、細胞内に情報を伝達する。Wnt シグナルの細胞内情報伝達経路^{5,6)} には、① β -catenin、転写因子 Tcf/Lef を介する標準的経路 (Wnt/ β -catenin 経路)、② 低分子 G 蛋白を介する Wnt/PCP 経路、③ Wnt/ Ca^{2+} 経路の三つが知られている。また Wnt の作用を制御する分泌性因子として secreted Frizzled-related protein (sFRP)、cerberus、Wnt inhibitory factor-1 (WIF-1)、dickkopf (Dkk) などが存在する。

近年、Wnt の co-receptor である LRP5 の変異

解析の結果、Wnt シグナル系が骨形成に必須であることが明らかにされた。骨量低下、易骨折性と目の発達異常を呈する常染色体劣性遺伝性疾患である osteoporosis-pseudoglioma 症候群 (OPPG) の原因が、LRP5 の変異であることが Gong ら⁷⁾ により初めて報告された。LRP5 欠損マウスの解析⁸⁾ においても骨量低下、骨芽細胞の増殖低下と目の血管形成異常というヒトの OPPG と同様の phenotype の異常を認め、骨芽細胞の増殖低下は転写因子 Cbfa1 (Runx2) に依存しないことが報告されている。また、非常に高い骨密度と口蓋外骨腫、下顎前突顎骨の角状変形を呈する常染色体優性骨硬化症が LRP5 の変異によることも報告された^{9,10)}。LRP5 の 171 番目のグリシンがバリンに変異し、antagonist である dickkopf-1 (Dkk-1) と結合できなくなる結果、活性化型変異となり、高骨量を呈するとされる⁹⁾。

2 Wnt シグナル系に対するグルココルチコイドの作用

主として、Cbfa1 (Runx2) が骨の発生・分化に重要な役割を担うのに対し、Wnt/LRP5 系のシグナルは生後の骨形成の維持、促進に重要であると考えられる⁸⁾。そこでステロイド性骨粗鬆症の発症にグルココルチコイドによる Wnt シグナルの抑制の関与を考え、ヒト骨芽細胞初代培養系を用いて Wnt シグナル系に対するステロイドの影響を検討した¹¹⁾。Dkk-1 は *Xenopus* の head inducer として同定された¹²⁾ が、骨格系の発達に

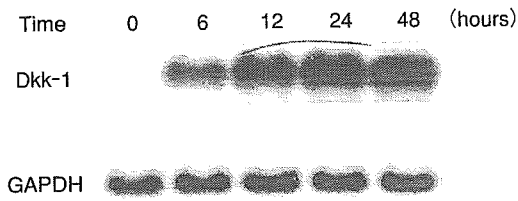


図1 ヒト初代培養骨芽細胞における dexamethasone (10^{-7} M) による Dkk-1 mRNA 発現の亢進

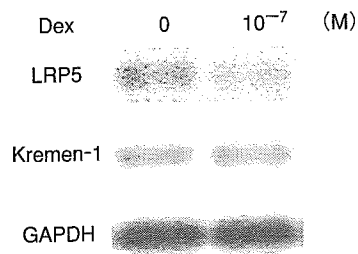


図2 ヒト初代培養骨芽細胞における dexamethasone (Dex, 10^{-7} M) の LRP5 および Kremen-1 の mRNA 発現への影響

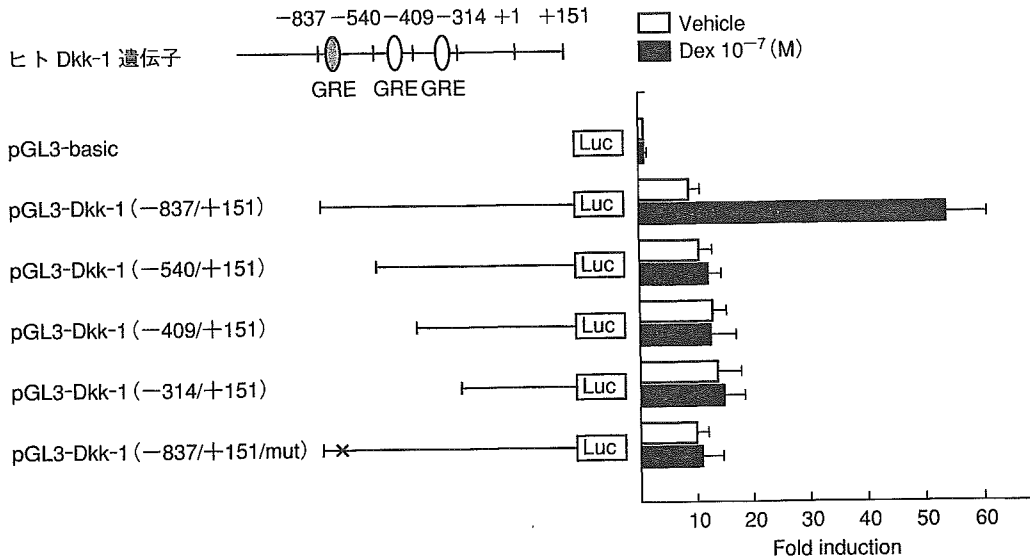


図3 ヒト初代培養骨芽細胞におけるヒト Dkk-1 遺伝子の promoter 活性に対する dexamethasone (Dex) の影響

も重要であることが明らかにされている¹³⁾。Dkk-1 は LRP5/6 および Kremen と結合して complex を形成し、細胞内へ取り込まれる結果、Wnt シグナルを抑制する。ヒト培養骨芽細胞は Wnt antagonist である Dkk-1 を発現し、その mRNA 発現量は 10^{-7} M の dexamethasone により著明な増加を認めた (図1)。しかし他のステロイドホルモン、すなわち 17β -エストラジオール、ジヒドロテストステロンや活性型 vitamin D₃ では Dkk-1 の発現に影響を認めなかった。Wnt シグナル関連分子のうち、co-receptor である LRP5 mRNA の発現は dexamethasone によりや

や抑制されたが、Dkk-1 に高い親和性を有し、LRP5 の endocytosis に関与する Kremen-1 の発現は変化しなかった (図2)。

グルココルチコイドによる Dkk-1 の発現誘導機構を明らかにするため、ヒト Dkk-1 遺伝子の promoter 領域をクローニングし、ルシフェラーゼ遺伝子の 5' 上流に組み込んだ発現 vector を構築、ヒト培養骨芽細胞に一過性に transfection して promoter 活性を検討した。-837bp までの領域を含む construct では、dexamethasone 添加により mRNA の増加と同様の転写活性の増加を認めたが、-540bp まで deletion すると増加反応は

消失した。この間には glucocorticoid response element (GRE) が存在し、これを介して発現誘導されることが考えられた。この GRE に変異を導入した発現 vector にて転写活性を検討した結果、dexamethasone 添加による転写活性の増加が消失した(図3)。これらの結果より、グルココルチコイドによる Dkk-1 の発現誘導は主として転写の亢進を介すると考えられた。

Wnt シグナルの伝達経路のうち、どの経路がおもに骨形成に関与するのには十分には解明されていないが、標準的経路が骨形成に重要である可能性が示唆されている^{3,4,14}。Wnt シグナルの標準的経路^{5,6}では、Wnt のない状態では β -catenin は glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) によりリン酸化され、ユビキチン化されて分解される。Wnt が細胞膜表面の受容体に結合すると GSK-3 β を抑制し、 β -catenin は細胞内に蓄積され、核内へ移行し、Tcf/Lef family の転写因子と結合して標的遺伝子の発現を調節する。そこで β -catenin/Tcf 依存性の転写活性に対するグルココルチコイドの影響を検討した。Wnt は Tcf/Lef 応答遺伝子の転写活性を増加させたが、dexamethasone はこれを強く抑制した¹⁵。すなわちグルココルチコイドは骨芽細胞での β -catenin 依存性の標準的経路を抑制し、骨形成機能を抑制する可能性が考えられた。

おわりに

今後、Wnt シグナル系を分子標的とした新しいステロイド性骨粗鬆症の治療薬の開発が展開されることを期待したい。

文 献

- 1) Manelli F, Giustina A. Glucocorticoid-induced osteoporosis. *Trends Endocrinol Metab* 2000;11:79-85.
- 2) Canalis E, Bilezikian JP, Angeli A, Giustina A. Perspectives on glucocorticoid-induced osteoporosis. *Bone* 2004;34:593-8.
- 3) Johnson ML, Harnish K, Nusse R, Van Hul W. LRP5 and Wnt signaling: a union made for bone. *J Bone Miner Res* 2004;19:1749-57.
- 4) Westendorf JJ, Kahler RA, Schroeder TM. Wnt signaling in osteoblasts and bone diseases. *Gene* 2004;341:19-39.
- 5) Wodarz A, Nusse R. Mechanisms of Wnt signaling in development. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1998;14:59-88.
- 6) Huelsken J, Birchmeier W. New aspects of Wnt signaling pathways in higher vertebrates. *Curr Opin Genet Dev* 2001;11:547-53.
- 7) Gong Y, Slee RB, Fukai N, Rawadi G, Roman-Roman S, Reginato AM, et al. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell* 2001;107:513-23.
- 8) Kato M, Patel MS, Levasseur R, Lobov I, Chang BH, Glass DA 2nd, et al. Cbfa1-independent decrease in osteoblast proliferation, osteopenia and persistent embryonic eye vascularization in mice deficient in Lrp5, a Wnt coreceptor. *J Cell Biol* 2002;157:303-14.
- 9) Boyden LM, Mao J, Belsky J, Mitzner L, Farhi A, Mitnick MA, et al. High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5. *N Engl J Med* 2002;346:1513-21.
- 10) Little RD, Carulli JP, Del Mastro RG, Dupuis J, Osborne M, Folz C, et al. A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. *Am J Hum Genet* 2002;70:11-9.
- 11) Ohnaka K, Taniguchi H, Kawate H, Nawata H, Takayanagi R. Glucocorticoid enhances the expression of dickkopf-1 in human osteoblasts: novel mechanism of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;318:259-64.
- 12) Glinka A, Wu W, Delius H, Monaghan AP, Blumenstock C, Niehrs C. Dickkopf-1 is a member of a new family of secreted proteins and functions in head induction. *Nature* 1998;391:357-62.
- 13) Mukhopadhyay M, Shtrom S, Rodriguez-Esteban C, Chen L, Tsukui T, Gomer L, et al. Dickkopf1 is required for embryonic head induction and limb morphogenesis in the mouse. *Dev Cell* 2001;1:423-34.
- 14) Hu H, Hilton MJ, Tu X, Yu K, Ornitz DM, Long F. Sequential roles of Hedgehog and Wnt signaling in osteoblast development. *Development* 2005;132:49-60.
- 15) Ohnaka K, Tanabe M, Kawate H, Nawata H, Takayanagi R. Glucocorticoid suppresses the canonical Wnt signal in cultured human osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;329:177-81.

加齢による血管内皮機能の変化

大中佳三 高柳涼一

Change of endothelial function with aging

Keizo Ohnaka, Ryoichi Takayanagi

Department of Geriatric Medicine, Graduate School of Medical Sciences,
Kyushu University

Abstract

Vascular endothelium plays important roles in vascular relaxing, anti-atherosclerotic, or anti-thrombotic effect through production of vasoactive substances such as nitric oxide. Accumulated evidences suggest that endothelial dysfunction is the initial step in the development of atherosclerosis. Recently, less invasive or non-invasive method such as venous occlusion plethysmography and measurement of flow-mediated dilatation has been developed to evaluate endothelial function. Several investigations using these methods showed that endothelial function is impaired with aging. The mechanism of endothelial dysfunction with aging remains to be fully elucidated, although oxidative stress may be involved in impairment of endothelial function.

Key words: endothelial function, aging, atherosclerosis, nitric oxide (NO), oxidative stress

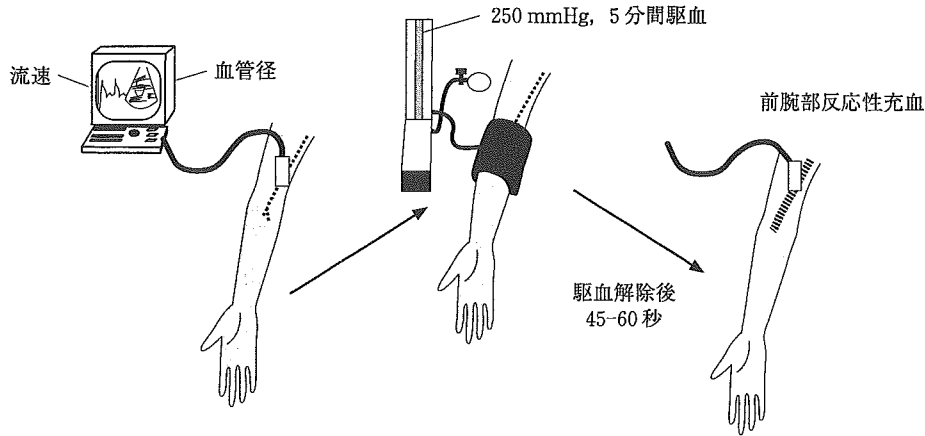
はじめに

血管内皮は血管内腔のバリアとしての機能に加え、種々の生理活性物質を産生して血管内外の恒常性維持に重要な働きをしている。血管内皮機能は高血圧、高脂血症、糖尿病などの様々な動脈硬化の危険因子によって低下することが知られ、その機能低下は初期段階より動脈硬化症の発症・進展に深く関与する。

本稿では、血管内皮機能の評価法と加齢による変化について概説する。

1. 血管内皮機能とその評価法

血管の内腔を覆う一層の内皮細胞層によって構成される血管内皮は、内腔と血管壁の間のバリアとしての機能を担うとともに、種々の刺激に応じて様々な生理活性物質を産生・放出することによって、血管トーンスの調節作用、抗凝固作用、線溶作用、抗動脈硬化作用など血管内外の恒常性維持に重要な働きをしている。血管内皮細胞が産生するものには、エンドセリン、アンジオテンシン II, thromboxane A₂ (TXA₂) などの血管収縮性因子と、内皮由来血管弛緩因子 (EDRF) の本体とされる一酸化窒素 (nitric



安静時血管径の測定

図1 超音波を用いた血流依存性血管拡張反応 (FMD) の測定¹⁸⁾

oxide: NO) ないしその類縁化合物, プロスタグランジン I₂ (PGI₂), C 型利尿ペプチド (CNP), アドレノメジュリン, 内皮由来過分極因子 (EDHF) などの血管弛緩性因子があり, そのバランスによって血管トーンが調節されている。これらの因子は血管トーン調節のみならず, 種々の作用に関与するが, なかでも特に NO は血管内皮が有する血管弛緩作用, 抗動脈硬化作用, 抗血栓形成作用などに中心的役割を果たし, 動脈硬化症の発症・進展に極めて重要な役割を担うと考えられている。

血管内皮機能の評価法には, 血管弛緩薬に対する血管径の変化や血流の変化をみる方法と, エンドセリン, von Willebrand 因子, PAI-1 などの内皮マーカーを測定する方法がある。しかし上述のように, その重要性より主に NO を介した血管弛緩機能の評価するものが, 血管内皮機能評価法の中心となっている。血管径の変化や血流の変化をみるには従来, カテーテルを用いて血管造影を行い, アセチルコリンなどの薬物投与に対する血管拡張反応をみる侵襲的方法が行われてきた。

近年, より侵襲性の少ない血管内皮機能評価法が開発されてきている。1992 年 Celermajer らは, 上腕動脈の血流依存性血管拡張反応 (flow-mediated dilatation: FMD) を超音波装置にて測定することにより, 血管内皮機能を非

侵襲的に測定する方法を開発した。安静時の血管径を測定後, マンシュートにて 5 分間駆血し, 駆血解除後の上腕部血流増加による血管径の増加率を % FMD として計測するものである (図 1)。駆血解除後の血流増加により生ずるズリ応力 (shear stress) に反応して内皮より NO が放出され, 血管が拡張することを利用したもので, 内皮機能が低下した状態では % FMD は低下することになる。

一方, 静脈プレチスモグラフィを用いて前腕血流 (forearm blood flow: FBF) を測定し, 上腕動脈からの薬物注入への血管拡張反応をみることにより血管内皮機能の評価する方法も Taddei ら²⁾, Gerhard ら³⁾ などにより報告されている。注入薬物に対する FBF の変化の傾き (slope) をもって評価するが, この方法ではアセチルコリンおよび sodium nitroprusside の注入により内皮依存性血管拡張反応と内皮非依存性血管拡張反応の両方を評価できる。

2. 加齢による血管内皮機能の変化

Celermajer ら⁴⁾ は, 明らかな動脈硬化を有さない 238 人の男女において超音波装置を用いて FMD を測定し, 加齢に伴い血管内皮機能が低下することを報告した。男性では 40 歳以降に血管内皮機能が低下し始めるのに対し, 女性では 50 歳まで低下を認めないものの, それ以降

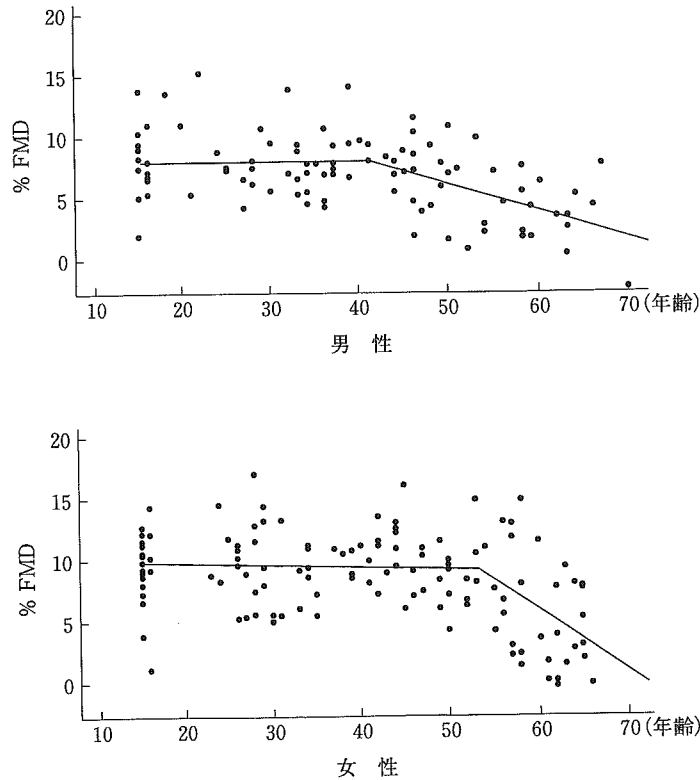


図2 加齢による血管内皮機能の変化⁴⁾
血流依存性血管拡張反応(FMD).

の低下は女性の方が急速であった(図2)。この差は閉経に伴うエストロゲンの変動の影響と考えられている。日本人を対象とした検討においても、加齢に伴うFMDの低下についてはほぼ同様の結果が示されている⁵⁾。

Taddeiら²⁾は、プレチスモグラフィを用いた検討により、加齢に伴い血管内皮機能が低下することを報告している。高脂血症、糖尿病、虚血性心臓病などの異常を有さない正常血圧者および高血圧者を対象に、プレチスモグラフィによる内皮機能の評価を行った。アセチルコリンに対する内皮依存性血管拡張反応は、正常血圧者、高血圧者とも加齢に伴って低下を認め、高血圧者ではより低下しているが、sodium nitroprussideに対する内皮非依存性血管拡張反応は年齢によりあまり変化しないという。Gerhardら³⁾も19-69歳までの健常人119人を対象に静脈閉塞プレチスモグラフィを用いて、血管拡張

反応を検討した。内皮依存性血管拡張反応の低下は健常人においても30歳代より既に認められ(図3)、単変量解析にて年齢、総コレステロール、LDL-Cが抽出され、多変量解析では年齢のみが血管拡張反応低下の有意な因子と報告した。

Framingham研究の参加者2,883人を対象とした最近の大規模研究⁶⁾でも、FMDで評価した内皮機能が加齢に伴い低下し、性別、収縮期高血圧、BMIなどと並んで、加齢が他の動脈硬化危険因子と独立したFMDの規定因子の一つであることが示されている。

加齢に伴い血管内皮機能が低下する機序については現在のところ明らかではない。加齢に伴いNO産生が低下するメカニズムについて、培養血管内皮細胞を用いた検討では、細胞老化に伴って内皮型NO合成酵素(eNOS)のmRNAや蛋白発現が減少しNO産生が低下するという

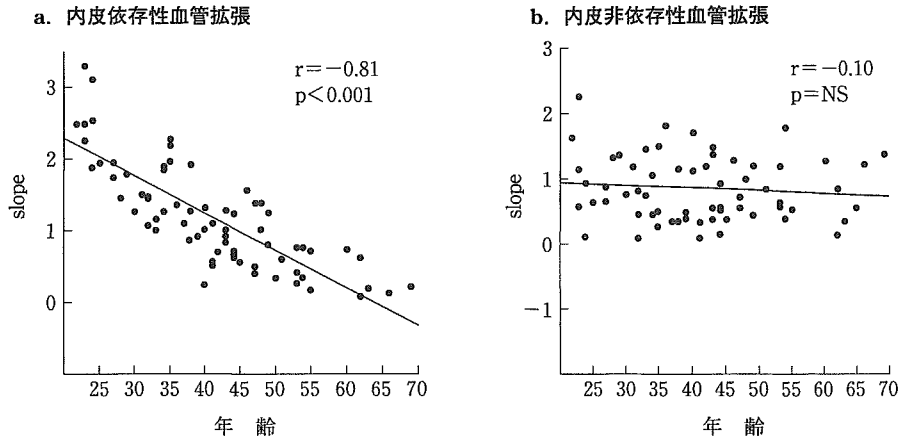


図3 健常者における加齢による血管内皮機能の変化⁹⁾
プレチスモグラフィによる検討.

報告⁷⁾, eNOSを活性化するAktも低下しているという報告⁹⁾がある。一方, ラットでの検討では, 老齢ラットでは若年ラットに比べeNOSのmRNAは減少しているという報告⁹⁾や, eNOS蛋白は増加しているが, 活性は低下しているとする報告¹⁰⁾があり, 一定していない。van der Looら¹¹⁾は雄性ラットにて詳細な検討を行い, 老齢ラットの大動脈リング標本で内皮依存性血管拡張反応やNO遊離量が低下する一方, ホモジネートのeNOS蛋白や活性はむしろ増加しており, その解離の機序としてNOと同時に活性酸素であるsuperoxide(O²⁻)の産生が増加し, 両者によるperoxynitrite(ONOO⁻)の生成が関与することを報告している。酸化ストレスによる活性酸素種の増加の関与は, ヒトにおける高齢者での内皮機能障害が酸化ストレスの指標と相関し, 抗酸化剤であるビタミンC投与で改善されるという報告¹²⁾とも一致する。

3. 血管内皮機能低下に対する治療

HMG-CoA還元酵素阻害薬(スタチン), アンジオテンシン変換酵素阻害薬(ACE), アンジオテンシンII受容体拮抗薬(ARB)などの薬剤, 閉経後女性へのホルモン(エストロゲン)補充療法, 運動療法などには内皮機能の改善作用が報告されている。スタチンは内皮細胞のNOS発現を

増加させるとともに, Akt活性化を介してNOS活性を上昇させる^{13,14)}。ACEやARBはアンジオテンシンIIの作用の抑制に加えて, 前者ではブラジキニン増加によるNOSの活性化, 後者ではアンジオテンシンIIの上昇によるAT₂受容体活性化を介してNOS活性化をもたらすとされる。またエストロゲンはPI3K/Aktを介してNOSを活性化させる¹⁵⁾。運動が血管内皮機能を改善する機序としてはshear stressの関与¹⁶⁾が想定されている。

おわりに

血管内皮機能は, 加齢とともに比較的若い年代より低下を認めるが, そのスクリーニングは現時点では簡単とはいえない。非侵襲的とされるFMDの測定も, 現在の方法では検査者間・検査施設間において再現性が低いことや検査に時間がかかることが問題とされる。FMD測定の自動化システムの開発や, フィンガーチッププローブを用いて指尖での反応性充血を測定する末梢動脈充血反応断層計測法も最近報告¹⁷⁾されている。簡便で再現性のよい測定方法, あるいは鋭敏な血液マーカーの開発により血管内皮機能を評価でき, 動脈硬化症の早期診断・予防がより可能になることを期待したい。