

テロール値の上昇が抑制された。

4. (神宮司誠也、山本卓明、九州大学)

ステロイド性 ION の家兎モデルに第 3 世代のスタチンであるピタバスタチンを投与して ION 予防効果を検討した。

コントロール群では骨壊死発生率が 70%であったのに対し、ピタバスタチン投与群では 43%であった。プロブコールの投与における同様の実験の結果では骨壊死発生率は 37%であり、ピタバスタチン投与群とはほぼ同等の結果であった。LDL-C については、プロブコール群、ピタバスタチン群ともにコントロール群より有意な低下を認め、ピタバスタチン群では、プロブコール群と比してさらに有意な低下を認めた。

5. (高岡邦夫、大阪市立大学)

骨壊死発生と高脂血症、さらにステロイド代謝の主要酵素である CYP3A6 の活性との関係を検討した。CYP3A6 を誘導しない非スタチン系高脂血症治療薬(プロブコール)、CYP3A6 を誘導しないスタチン系高脂血症治療薬(プラバスタチン)、または CYP3A6 誘導作用を有するスタチン系高脂血症治療薬(シンバスタチン)をステロイド性家兎骨壊死モデルに投与した。

高脂血症治療薬投与 3 群ともにコントロール群に比べて骨壊死頻度は低下した。また、非スタチン系のプロブコール投与群に比し、スタチン系治療薬投与群で骨壊死発生頻度は減少した。さらに、CYP3A6 活性誘導作用のないプラバスタチン投与群に比し、CYP3A6 を誘導するシンバスタチン投与群で骨壊死発生は減少した。これらの結果より、ION の予防には脂質の低下に加えてスタチンの特異的薬理作用が有用であること、また ION 発生とステロイド代謝酵素活性に関連性があることが示唆された。

【考察】

1. まだ症例数が少なく解析する段階ではないが、症例数を集めるため多施設共同研究を行っている。スタチン単独で有意な壊死抑制効果が認められれば、合併症も少なく入院治療も必要としないため、臨床診療において福音となる可能性がある。
2. スタチン投与下においても脂質のコントロールが不良である場合、ION 発生のリスクは軽減されない可能性が考えられる。
3. ワーファリンの単独使用に対して、スタチンを併用することによって、ION の予防効果が増強する

ことが期待できる。また、今回生じた ION はステロイド投与開始から 1 年以上経過してから発生しており、ワーファリンとスタチンを併用することによって ION の発生を遅らせる可能性があると考えられた。

4. プロブコール群とピタバスタチン群は共に骨壊死発生率の低下を認め、高脂血症を抑制することが骨壊死発生の予防につながることを確認できた。また、両群間で脂質の低下に有意差があるにもかかわらず、骨壊死発生率に差がないことから、脂質を低下させることのみが骨壊死発生減少に結びつく訳ではないと推察できる。
5. 3 群ともに頻度が低下したことは高脂血症の改善による効果と考えられる。また、非スタチン系のプロブコール投与群に比し、スタチン系治療薬投与群で骨壊死発生頻度は減少した。これについては、CYP3A 活性に関わりなくスタチンの特異的薬理作用が影響している可能性がある。CYP3A6 活性誘導作用のないプラバスタチン群に比べて、誘導作用を持つシンバスタチン群では骨壊死頻度が低下したことから、CYP3A6 活性誘導が壊死発生抑制に関与することも推察される。

【本年度における目標の達成度】

前向き臨床研究では厳密な randomized controlled trial の study design で施行しているため、症例数を増やすために多施設共同研究を開始してデータの蓄積を進めている。まだ症例数が十分でないため有意差とはいえないが、投与群で壊死発生は認めておらず、当初の研究目標は達成したと言える。

【来年度における研究予定】

確実な予防法が確立できれば国民の健康レベルの向上につながる。高脂血症治療薬による大腿骨頭壊死症発生予防の多施設共同研究を進めていく。

サブグループリーダー: 中島滋郎

(大阪大学大学院医学系研究科 小児科学)

高橋謙治(京都府立医大大学院医学研究科 運動器機能再生外科学)

1. 研究目的

特発性大腿骨頭壊死症(ION)、特に近年増加しているステロイドホルモン薬投与に関連した ION の発生を予測し、さらに予防することを目標とする。ステロイドホルモンの作用あるいは副作用の出現には個人差が存在し、その背景には何らかの遺伝的因子が存在していると考えられる。本サブグループでは、ステロイド誘発性 ION の遺伝的素因と発生のメカニズムを解明する目的で、ステロイドホルモン作用発現に関与する遺伝子(群)と大腿骨頭壊死症そのものの発症に関与する遺伝子(群)について検討した。遺伝的因子の検討としてゲノム遺伝子を用いた SNP 解析を、また、その因子が実際に疾患に関与しているかの検討として mRNA レベルおよび蛋白レベルでの解析を行っている。このような研究を通して、ION の疾患感受性の患者個体差を判定する方法を確立する。

2. 研究方法

ステロイドホルモンの作用発現に関与する因子そのものの基礎的検索を加藤が、ステロイドホルモン作用に関与する様々な因子の遺伝子多型とステロイド誘発性 ION 発生の関連の解析を中島が、肝臓での CYP3A 活性とステロイド誘発性 ION 発生の関連の解析を高岡がそれぞれ行った。また、ステロイドホルモンの副作用発現に深く関係するリポ蛋白質の血中濃度や遺伝子多型と ION の発生の関連について高橋が検討した。

(1)ステロイドホルモンの作用発現に関与する因子の基礎的検索(加藤茂明)

グルココルチコイド受容体(GR)や他のステロイド受容体と結合する転写共役因子である SRC-1 について、Cre/loxP システムを用いて欠損マウス(SRC-1^{flx} マウス)を作成し、骨組織を観察した。また、GR を恒常的に発現する浮遊 HeLa 細胞の樹立し大量培養を行い、その核抽出液より GR と相互作用する因子群の取得を試みた。さらに、破骨細胞特異的 Cre 発現マウスを作製し、既に樹立済みのアンドロゲン受容体(AR)あるいはエストロゲン受容体(ER) flox マウスと交配を行う事で破骨細胞特異的 AR 及

び ERKO マウスを作製し、骨組織の解析を行った。

(2)ステロイドホルモン作用に関与する因子の遺伝子多型とステロイド誘発性 ION 発生の関連の解析(中島滋郎、田村京子)
従来より GR 遺伝子、MDR-1 遺伝子および 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 遺伝子の多型について解析してきた。本研究班(平成 16-18 年度)ではこれらの研究をさらに発展させ、ステロイドホルモン代謝に重要な酵素である CYP3A4、GR の重要な転写共役因子である cAMP-response element binding protein-binding protein(CBP)や Nuclear Receptor Coactivator 2 (NCOA2)の遺伝子多型とステロイド性 ION の発生の関連について検討を行った。

CYP3A4 遺伝子プロモーター領域の SNP については、欧米で既報の G/A 多型の健常日本人での出現頻度を検討した。CBP 遺伝子および NCOA2 遺伝子については、日本人における SNP データベース(東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターと科学事業振興事業団の共同プロジェクトである JSNP データベース)上に日本人での多型の分布がほぼ判明している多型を検索した。CBP 遺伝子多型は23個登録されており、そのうち2個が翻訳領域上にあり(JST103922, 008357)、さらにそのうち1個(JST103922)は日本人での多型の分布がほぼ判明している。NCOA2 遺伝子についてはイントロン部分にある多型(JST067949)を解析した。以上の多型をふくむ部分に PCR プライマーを設定し、下記の腎移植後患者および健常日本人より得たゲノム DNA を用いて PCR 反応を行った。PCR 産物を精製した後、ダイレクトシーケンス法により DNA 配列を検討した。検討対象は京都府立医科大学における腎移植後患者 157 名(男性 112 名 女性 45 名)で、そのうち ION 発生群は 34 名(男性 23,女性 11 名)、ION 非発生群 123 名(男性 89,女性 34 名)であった。また同時に健常日本人 76 名でも検討した。

また、遺伝子多型(G/A)により CBP 遺伝子 mRNA の転写量あるいは転写後の安定性に差がある可能性を検討する目的で、以下の実験を行った。まず、A/A あるいは G/A の多型を有する健常人のリンパ球より総 RNA を抽出し、cDNA を合成する。

CBP 遺伝子の多型部位(JST103922)を含む DNA 領域を PCR 法にて増幅後、制限酵素 *Nla*IV で切断後、泳動分離した。*Nla*IV にて A アレル由来の PCR 産物は 594bp のまま、G アレル由来の PCR 産物は 391bp と 203bp に切断されるので、各バンドの濃度を比較することで各々の cDNA 量の差を解析した。

(3) 肝臓での CYP3A 活性とステロイド誘発性 ION 発生の関連の解析(高岡邦夫, 金城養典)

生体内でステロイド剤は主に肝臓の薬物代謝酵素である CYP3A により代謝を受け、代謝を受けなかった未変化体が標的細胞に至り作用する。CYP3A は現在使用されている全薬物の 50%以上を代謝すると考えられており、また肝臓での mRNA の発現量は 50 倍以上、その生体内機能は 4-10 倍の個体差があるとされ、薬物反応性の個体差を説明する酵素の一つとされている。このため、CYP3A 活性の低い患者はステロイド剤の代謝が悪く、その過剰な薬理効果のためにステロイド性 ION を発生する可能性があり、以下の検討を行った。

対象は、整形外科入院手術を受けたステロイド性 ION 患者 26 例、アルコール性 ION 患者 29 例、整形外科入院手術を受けた健常人 75 人を control 群とした。

CYP3A 活性定量は midazolam clearance を計測することにより定量した。整形外科手術麻酔導入を midazolam 0.25 mg/kg にて導入し、静注後経時的(5,10,15,20,30,45,60,90,120,180,240,360 分)に採血を行い、血中 midazolam 濃度、および 1'-OH midazolam 濃度を HPLC にて定量した。得られた値より濃度曲線を作成し血中濃度曲線下面積(AUC; Area under the concentration curve)を測定し、midazolam clearance 値 ($CL = \text{Dose}/\text{AUC}$) を算出し、CYP3A 活性とした。

低侵襲なスクリーニングテストとして midazolam の代謝産物である 1'-OH midazolam 濃度を midazolam 濃度で除した 1-OH' midazolam/midazolam ratio について解析した。全ての採血ポイントで 1-OH' midazolam/midazolam を算出し、CYP3A 活性との相関性及びステロイド性 ION 発生高リスク患者の同定の可能性について検索を行った。

(4) リポ蛋白質の遺伝子多型および血中濃度と ION の発生の関連(高橋謙治, 平田哲朗)

ION の発生に、凝固・線溶系、脂質代謝の異常の関与が既に報告されている。リポ蛋白質には、VLDL、LDL、HDL などがあり、triglyceride(TG)や total cholesterol(TC)などの脂質の周囲に Apolipoprotein B (ApoB)や Apolipoprotein A1 (ApoA1)などのタンパク質が取り巻いている構造をしている。low density lipoprotein (LDL)は肝臓から末梢へ脂質を運び、主な構成要素は ApoB

である。一方、high density lipoprotein (HDL)は末梢から肝臓へ脂質を運び、その主な構成蛋白は ApoA1 である。そこで、凝固線溶系や脂質代謝に深い関わりを持つとされる Lipoprotein(a)[Lp(a)]や脂質代謝に深い関わりを持つリポ蛋白質と ION 発生との関連について検討した。

京都府立医科大学で腎移植が施行された患者のうち、ION 発生が確認された 34 例の ION 患者を症例とし、移植後 1 年以上経過例で全身に骨壊死が発生していないことを確認している患者 124 例を対照とした。末梢血リンパ球より抽出したゲノム DNA を用いて、ApoB 遺伝子の C7623T 多型と G12619A 多型、および ApoA1 遺伝子の G-75A 多型と C83T 多型を検査した。

さらに、112 例(症例 20 例、対照 92 例)に対して、apo(a) phenotype の測定を行った。Utemann らの方法に準じて apo(a) 分子を F、B、S1、S2、S3、S4 の 6 つの isoform に分類し、F、B、S1、S2 を含む群を Low Molecular Weight (LMW)群、S3、S4 のみの群を High Molecular Weight (HMW)群とした。また、同時に血中の Lp(a)、ApoB、ApoA、LDL、HDL、TG および TC 濃度を測定した。

また、上記のほかにも虚血性心疾患や angioplasty 後の再狭窄などの血管病変と関連の深い SNP として報告されている lipoprotein lipase(LPL, S447X)、fatty acid-binding protein 2(FABP2, G2445A)、cholesteryl ester transfer protein(CETP) (RS708272)、thrombomodulin (THBD, C2136T)、NADH/NADPH oxidase p22 phox(p22-PHOX, C242T)、eNOS(G894T)、eNOS(T-786C)、paraoxonase (PON1, Arg192Gln, Leu54Met)、および Connexin-37(GJA4, C1019T)について、ION 発生との関連を TaqMan PCR 法を用いて解析した。

(5) ION 発生と 3 遺伝子 (ABCB1、ApoB、CBP) 多型の関連(高橋謙治、平田哲朗、中島滋郎、田村京子)

今回およびこれまでの検討で、ION 発生と有意な関連が明らかになった輸送タンパクの ABCB1 遺伝子、脂質代謝の ApoB 遺伝子、そして GR 関連の CBP 遺伝子のそれぞれの多型の相互関連について logistic regression model を用いて解析した。

(倫理面への配慮)

患者および健常人に対して行う研究については、当該施設において倫理委員会およびヒトゲノム研究審査委員会により承認されている。

3. 研究結果及び考察

(1) ステロイドホルモンの作用発現に関与する因子の基礎的検索(加藤茂明)

SRC-1KO マウスは、雌雄共に発生・成長に異常なく生殖も可能であったが、DEXA を用いて骨量について解析した結果、大腿骨の骨密度が野生型マウス(WT)と比較して約 20%低下していた。更に 3D-CT により検討したところ、骨量減少は皮質骨・海綿骨ともに認められた。一方、プレドニゾン投与による骨量低下は WT と SRC-1KO で同程度に見られた。この結果より、骨におけるグルココルチコイドシグナルには SRC-1 は関与していない事が示された。

タンパク精製を用いた新規 GR 転写共役因子の取得に関しては、FlagGR の強制発現細胞の樹立に成功し、ヒストン脱アセチル化酵素 HDAC2 が GR と AP1 と複合体を形成する事を見出した。

破骨細胞特異的 ARKO マウスでは、破骨細胞数の増加と、それに伴う骨吸収の亢進によって大幅な骨量低下を認めた。また、メスの破骨細胞特異的 ERKO マウスでは破骨細胞機能の亢進に伴う顕著な骨密度の低下が見られた。また、このマウスではエストロゲン過剰投与による海綿骨量の増加が著しく阻害されている事が分かった。一方、オスの破骨細胞特異的 ERKO マウスにおいてはこれらの異常は観察されないことから、生理的条件下において ER はメス特異的な骨吸収制御因子として機能すると考えられた。

(2)ステロイドホルモン作用に関与する因子の遺伝子多型とステロイド誘発性 ION 発生の関連の解析(中島滋郎、田村京子)

CBP 遺伝子の JST103922 多型については、健常者62名の検討では G/G 82.3% A/G 17.7% A/A 0%であった。腎移植患者157名では、全体で G/G 81.5% A/G 18.5% A/A 0%で健常者とは差を認めなかった。このうち ION 発生群では G/G 67.6% A/G 32.4% A/A 0%、非発生群では G/G 85.4% A/G 14.6% A/A 0%で、有意差を認めた($p=0.018$)(図1)。両群の年齢、性別およびステロイドホルモン投与量を加えた多変量解析でも同様の結果であった($p=0.036$)。

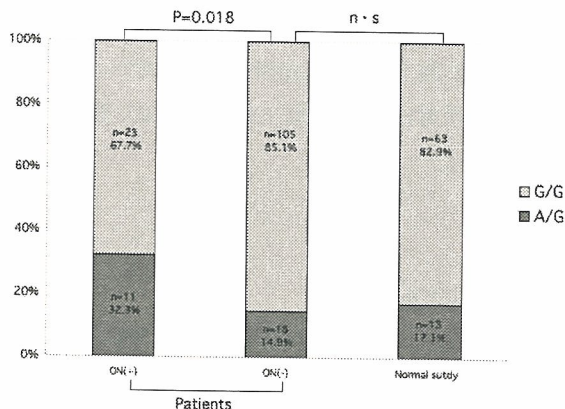


図1

一方、この結果を各遺伝子型に分けて解析すると、G/G 多型を呈する群での ION 発生は 18.0%、A/G 多型群では 37.9%であった。以上の結果より、CBP 遺伝子多型で G/A を有する患者では ON が発生しやすいと考えられ、後述の様に現在そのメカニズムについて検討している。

CYP3A4 遺伝子プロモーター領域の SNP は、健常日本人 39 名での検討では A/A が 39 名、A/G が 0 名、G/G も 0 名であった。従って、日本人ではこの部位の多型は全くないか、非常に少ないものと考えられた。また、NCOA2 遺伝子の JST067949 多型は、健常日本人 76 名の検討で C/C 63.2%、C/T 35.5%、T/T 1.3%であった。一方、腎移植患者 157 名では、ION 発生群では C/C 64.7%、C/T 32.4%、T/T 2.9%、非発生群では C/C 50.4%、C/T 40.7%、T/T 8.9%で、統計学的に有意差は認めなかった($p=0.14$)。

現在のところ、A/G および G/G 多型由来の mRNA の各々 1 名ずつについてのみ検討を行った。G/G 多型由来の PCR 産物は完全に切断されているのに対し、A/G 由来の PCR 産物の切断では A アレル由来のバンド(594bp)が G アレル由来のバンド(391bp)より濃く、これは分子量で補正しても同様であった。この結果は A アレル由来の mRNA が G アレル由来の mRNA より多い、すなわち安定している可能性が示唆された。

(3)肝臓での CYP3A 活性とステロイド誘発性 ION 発生の関連の解析(高岡邦夫、金城養典)

ステロイド性 ION 群、アルコール性 ION 群、control 群の midazolam clearance 値の分布を示す(図2)ステロイド性 ION 群は midazolam clearance 値が低値であり、平均値にて比較するとアルコール性 ION 群、control 群と比較して統計学的有意に CYP3A 活性が低かった($p<0.001$)。

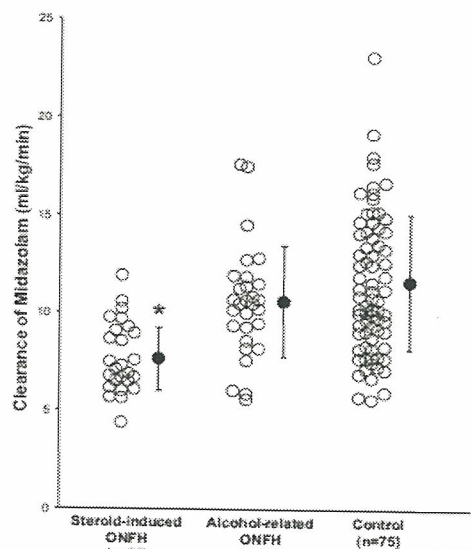


図2

次に、CYP3A 活性低値がステロイド性 ION の発生に関与しているか検索するために unconditional logistic regression model を用いて多変量解析を行った。単変量解析において、midazolam clearance が 1mg/kg/min 減少するごとにステロイド性 ION 発生のリスクが 1.7 倍上昇していた ($p < 0.001$)。さらに、control 群の midazolam clearance 値の第 2 三分位である 9.5mg/kg/min 以下を CYP3A 活性低値と設定し解析したところ、CYP3A 活性低値はステロイド性 ION 発生のリスクを 8.4 倍高めていた ($p < 0.001$)。多変量解析にて性・年齢・喫煙・高脂血症・肝機能・腎機能の影響を調整した結果、最終的に CYP3A 活性低値はステロイド性 ION 発生のリスクを 9 倍上昇させていた ($p < 0.001$)。また、Attributable fraction は 89% であり、肝 CYP3A 活性低値はステロイド性 ION の主要な原因であることが明らかになった。

75 名の患者において 1'-OH midazolam/midazolam ratio を算出し、midazolam clearance 値との相関を検討した結果、midazolam 投与後 45 分での 1'-OH midazolam/midazolam ratio は midazolam clearance 値と非常に良い相関を示し、CYP3A 活性をよく反映することが明らかになった ($p < 0.0001$)。さらにステロイド性 ION 患者の 1'-OH midazolam/midazolam ratio は低値 ($p < 0.001$) であり、これを用いた 1 回採血法による簡便なリスク予知検査が可能であると考えられた。

(4) リポ蛋白質の遺伝子多型および血中濃度と ION の発生の関連 (高橋謙治、平田哲朗)

ApoB 遺伝子の C7623T で Allele T を有する genotype では genotype CC に比べて OR 6.37 と有意な上昇を認めた (表 1)。すなわち、T を有する症例で ION が発生するリスクが有意に高いことが判明した。ApoB の G12619A や ApoA の G-75A、C83T では有意な関連を認めなかった。また、ApoB や Apo A1 の血中濃度と単独では ION 発生の間に有意差を認めなかったが、ApoB/A1 比と有意差を認めた ($p = 0.045$)。ApoB C7623T では、遺伝子型 CC の症例は冠動脈疾患になりやすいが、TT の症例では血中脂質濃度が高くなるにも関わらず冠動脈疾患になりにくいという報告がある。今回の結果で CT+TT が ION の危険因子であることが明らかになったことから、ステロイド性 ION の発生過程には、冠動脈疾患とは異なった脂質代謝異常の病態が存在する可能性がある。

また、apo(a) phenotype と ION 発生の関連については、isoform の F、B、S1、S2 を 1 つでも含む phenotype LMW では症例 10 例 (50.0%)、対照 14 例 (15.2%) に対し、S3、S4 のみを含む phenotype HMW では症例 10 例 (50.0%)、対照 78 例 (84.8%) であった。このように apo(a) phenotype と ION 発生の間には統計学的に有意な強い関連を認めた ($p = 0.0018$)。一方、環境因子に影響を受ける血中

Lp(a) 濃度においては、ION 発生との間に有意な関連を認めなかった。これらの結果から、環境因子に左右されずに遺伝的に各個人で規定されている apo(a) phenotype の方が、血中 Lp(a) 濃度よりも ION 発生の予測に有用であると考えた。

なお、脂質代謝関連、凝固線溶系関連、生体内酸化ストレス関連および血管内皮細胞関連因子 SNP はすべて ION 発生と有意な関連を認めなかった。

表 1 SNPs と ION 発生との関連性

ApoB	症例	対照	#Adjusted OR (95%CI)	P value	
C7623T	CC	27	115	1	0.011
	CT TT	6	7	6.37 (1.53-26.52)	
G12619A	GG	33	112	1	0.602
	GA AA	1	11	0.55 (0.06-5.11)	
ApoA1	症例	対照	#Adjusted OR (95%CI)	P value	
G-75A	GG	22	86	1	0.459
	GA AA	11	34	1.41 (0.57-3.50)	
C83T	CC	29	106	1	0.615
	CT TT	4	14	1.39 (0.38-5.05)	

#This model includes Sex, Age, kidney, Acute rejection Immunosuppressant, and Steroid Administration

(5) ION 発生と 3 遺伝子 (ABCB1、ApoB、CBP) 多型の関連 (高橋謙治、平田哲朗、中島滋郎、田村京子)

まず、ABCB1 遺伝子、ApoB 遺伝子そして CBP 遺伝子の多型でリスクの上昇を認め、このリスク上昇は互いの遺伝子多型で調整後も保たれていた。

次に、2 遺伝子ずつの組合せと ION との関連については、ABCB1 遺伝子 と CBP 遺伝子 の SNP の組合せで 4 つのグループに分け、ABCB1 TT、CBP GG の症例を reference としたときの 3 グループの OR を計算した。ABCB1 TT、CBP AG の症例 (OR=6.55)、ABCB1 TC+CC、CBP GG の症例 (OR=6.45) では、いずれも OR の上昇を示したが有意ではなかった。ABCB1 TC+CC、CBP AG の症例では、OR=22.91 とあり、有意な OR の上昇を認めた。

4 評価

1) 達成度について

基礎的研究としては、ステロイドホルモンの機能発現機序に対する解明は非常に順調に達成されている (加藤ら)。臨床面では、ステロイド性 ION の発生に有意に関連する遺伝子多型と

して、以前報告した ABCB1 遺伝子に加えて新たに CBP 遺伝子(中島ら)および ApoB 遺伝子(高橋ら)を明らかにした。また、肝臓 CYP3A 活性(高岡ら)や apo(a) phenotype(高橋ら)と ION 発生の関連も明確になり、特に前者は ION の発生と極めて強い関係があることが示された。このように ION 発生を予測するマーカーの発見、開発の目標もほぼ達成できた。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

各々の研究成果は国内外の学会で発表され、また英文学術雑誌に掲載あるいは投稿中である。

加藤らの核内受容体の機能解析や骨代謝への関与に関する研究成果は世界のトップレベルのものであり、Nature Medicine、EMBO J、Proc Natl Acad Sci USA、Mol Endocrinol、J Biol Chemなどに掲載されており、この分野の研究の発展に広く寄与している。

さらに、CYP3A 活性と ION の関連(Kaneshiro Y et al. Low hepatic cytochrome P450 3A activity is a risk for corticosteroid-induced osteonecrosis. Clin Pharmacol Ther 80(4):396-402, 2006)および apo(a) phenotype と ION の関連(Hirata T et al. Low molecular weight phenotype of apolipoprotein(a) is a risk factor of corticosteroid-induced osteonecrosis of the femoral head after renal transplantation. J Rheumatol, in press.)が学術論文として公表されており、さらに CBP 遺伝子多型と ION の関連についての学術論文も投稿中である(Tamura K et al.)。

このように、遺伝子多型や、肝臓 CYP3A 活性、apo(a) phenotype の測定が ION 発生リスクの予想に応用できれば、近年増加しつつあるステロイド誘発性 ION の予防法の確立に大きく寄与すると考える。

3) 今後の展望について

基礎研究としては、ステロイドホルモンの作用、特に骨での作用発現に関与する因子の探求を続ける。

遺伝子解析については、さらに新規の遺伝子多型を検討するとともに、効率よくリスク評価できる組み合わせを検討する。

現在のところ、ステロイド性 ION の発生と最も関連が強い肝 CYP3A 活性については、さらに簡便かつ安全な検査法の確立を目指す。

4) 研究内容の効率性について

現在のところ、直接に患者を対象とした検討は主として京都府立医科大学整形外科教室および大阪市立大学整形外科教室で、基礎研究は主として東京大学分子細胞生物学研究所および大阪大学小児科教室でそれぞれ重複なく分担して行

っており、極めて効率的であると考え。

5. 結論

本サブグループでは、基礎的研究の成果をもとに、ステロイド性 ION の発生に関連する遺伝子多型として、既報の ABCB1 遺伝子に加えて新たに CBP 遺伝子および ApoB 遺伝子を明らかにした。さらに、肝臓 CYP3A 活性や apo(a) phenotype と ION 発生の関連も明確になり、特に前者は ION の発生と極めて強い関係があることが示された。このように、ION 発生を予測するマーカーの発見、開発という当初の目標に近づきつつあり、またこれらの成果の社会への公表も順調であると考え。

高脂血症治療薬を用いたステロイド性大腿骨頭壊死症予防法の研究

石田雅史、藤岡幹浩、平田哲朗、栗林正明、久保俊一
(京都府立医大大学院医学研究科 運動器機能再生外科学)
津田裕士、梁 広石
(順天堂東京江東高齢者医療センター 総合診療科)
山路 健、関谷文男 (順天堂大学医学部膠原病内科)
田中良哉、岡田洋右 (産業医科大学 第一内科学)
三森経世、野島崇樹、川端大介
(京都大学大学院医学研究科 内科学講座 臨床免疫学)
竹内 勤、天野宏一
(埼玉医科大学総合医療センター リウマチ膠原病内科)
川人 豊 (京都府立医大大学院医学研究科 生体機能制御学)
黒田 毅
(新潟大学大学院医歯学総合研究科 内部環境医学講座(第二内科))

京都府立医科大学、順天堂大学、産業医科大学、京都大学、埼玉医科大学、新潟大学の共同研究として高脂血症治療薬による大腿骨頭壊死症予防の可能性を検討している。患者背景を統一するため、SLE 初発患者でステロイド治療を初めて受けるものを対象として blocked randomization で無作為抽出した症例にアトルバスタチンを投与し、特発性大腿骨頭壊死症の発生予防効果を検討している。アトルバスタチンを投与したSLE症例13例において大腿骨頭壊死症は発生していない。

1. 研究目的

特発性大腿骨頭壊死症 (Idiopathic osteonecrosis of the femoral head; ION)は青壮年に好発し、進行性に股関節の破壊をきたして患者のQOLを著しく侵す関節疾患である。本疾患の病因は必ずしも明らかではないが、ステロイドの使用やアルコール多飲との関連が示唆されている。その罹患患者数は年々増加傾向にあり、特に近年では全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus; SLE)など種々の疾患治療にステロイドを使用した患者でのION発生が増加している。ION症例の約半数がステロイド投与と関連があると推測されているが¹⁾、ステロイドが本疾患の発生に関連する詳細な機序は不明であり、有効な予防措置がとれていないのが現状である。IONの存在はステロイドを用いた治療を進める上でも大きな障害

となっており、確実な予防法が求められている。これまでの臨床的研究によって、IONはステロイド投与開始から3-6ヵ月以内に発生し、それ以後の発生はまれであることが示されている²⁾。この期間がION発生の予防に重要な時期である。本研究の目的は、これまでに動物モデルや後向き臨床研究で骨壊死の発生抑制効果が確認されている高脂血症治療薬について^{3,4)}、厳密な前向き臨床研究でION発生抑制効果を評価することである。

2. 研究方法

A. 対象

対象は20歳以上65歳未満のSLE初発患者である。過去にステロイド治療を受けていない症例で、プレドニゾンに換算して0.5mg/kg/day以上のステロイド投与を開始するもののうち文書で研究へ

の協力が同意が得られた症例を対象とした。①妊娠を希望する女性患者、②すでに高脂血症治療薬の投与を受けている患者、③重篤な肝障害、腎機能障害、心疾患を有する患者、⑤その他、担当医が不相当と判断した患者は対象から除外した。6ヵ月以上経過を観察できた症例についてアトルバスタチンのION 予防効果を検討した。

B. blocked randomization

共同研究施設から報告された症例を京都府立医大で blocked randomization によって無作為に2群に分けた。1群にはステロイド投与開始と同時にアトルバスタチン10mg/dayを投与し、もう1群はアトルバスタチン非投与とした。

C. 血液生化学検査

登録された症例には血液検査を月に1回行った。評価項目は脂質代謝に関連する総コレステロール値(total cholesterol; T-chol)、中性脂肪値(triglyceride: TG)、炎症や凝固線溶系に関連する免疫グロブリンG(immunoglobulin G; IgG)、ループスアンチコアグラント、抗カルジオリピン抗体であった。各値のステロイド投与による変化、アトルバスタチン投与の有無との関連、ION 発生の有無との関連を検証した。現段階ではION 発生例が少ないため、ION 発生の有無と血液生化学検査所見との関連を検証する際には、RCT から脱落した症例も含めた。

D. 画像検査

単純X線像と単純MR画像でION 発生の有無を確認した。撮影はステロイド治療開始前と6ヵ月後に行い、可能な症例では1年後にも撮影した。基礎疾患が重篤な場合にはステロイド治療開始後4週までの画像検査を「治療前」として許容した。これは、ステロイド投与後のION が発生してからMR画像上の所見を生じるまでに4週間以上を要するためである。

E. 倫理面への配慮

患者には本研究に関する十分な説明を行い、文書による同意を得た。重篤な副作用を認めた場合や、患者ないしその家族が薬剤投与の中止を求めた場合、アトルバスタチン非投与群の患者が重度の高脂血症を呈した場合、その他担当医師が試験の継続が困難と判断した場合には登録患者は研究への参加を撤回できるよう配慮した。な

お、本研究は各共同研究施設の臨床研究審査委員会の承認を受けて施行した。

F. 統計解析

統計学的有意差の検討には Fisher's exact probability test、Shapiro-Wilk test、F test、Student's t-test、Welch's t-test、Mann-Whitney's U test、paired t-test を用い、 $P < 0.05$ を統計学的有意とした。

3. 研究結果

A. 患者背景

6ヵ月以上経過観察できたアトルバスタチン投与群は13例で、男性1人、女性12人、平均年齢は35.8歳(20-48歳)であった。ステロイド投与量はプレドニゾン換算で1日平均34.9mg、ステロイドパルス療法を受けた症例は3例であった。

アトルバスタチン非投与群として登録されたのは17例で、6ヵ月以上経過を観察できているアトルバスタチン非投与群は10例であった。7例は高度な高脂血症が進行して高脂血症治療薬を開始したため脱落例とした。男性1人女性9人で平均年齢は38.8歳(20-63歳)、ステロイド投与量はプレドニン換算で1日平均20.23mg、ステロイドパルス療法を受けた症例は3例であった。(表1)

表1. 対象症例

	アトルバスタチン (+)	アトルバスタチン (-)	p
症例数(男/女)	13 (1/12)	10 (1/9)	*1
平均年齢	35 (20-44)	40 (20-60)	**0.882
ループスアンチコアグラント陽性	1 (8%)	1 (10%)	*1
抗カルジオリピン抗体陽性	2 (15%)	3 (30%)	*0.621
ステロイドパルス	3 (23%)	3 (30%)	*1
総ステロイド量(mg)	7410	5525	**0.553

*Fisher's exact probability test **Student's t-test or Mann-Whitney's U test

B. ION 発生率

ステロイド投与開始から6ヵ月以上を経過しているアトルバスタチン非投与群では10例のうち2例でION の発生を認めた。統計学的に有意差は認めなかったものの、アトルバスタチン投与群13例では、ION の発生は1例も認めなかった(表2)。

表2. ION発生率

	アトルバスタチン (+)	アトルバスタチン (-)	p
ION 発生	0/13 (0%)	2/10 (20%)	*0.178

*Fisher's exact probability test

IONを発生した2例はともに女性で年齢は20歳と24歳であった。抗カルジオリピン抗体とループスアンチコアグラントは陰性で、ステロイド投与量はプレドニゾロン換算で1日平均42mg、1例はステロイドパルス療法を施行していた。(表3)

表3. ION発生の有無と患者背景

	ION (+)	ION (-)
	(n=2)	(n=21)
	n (%)	n (%)
女性	2 (100)	19 (90)
ステロイドパルス症例	1 (50)	5 (24)
ループスアンチコアグラント陽性	0 (0)	2 (9)
抗カルジオリピン抗体陽性	0 (0)	5 (24)
アトルバスタチン投与症例	0 (0)	13 (62)
年齢 平均値(範囲)	22 (20-24)	38 (20-63)
ステロイド投与量 平均値(範囲)	42 (26-58)	28 (1.7-63)

C. 血液生化学所見

1) ステロイド投与後の高脂血症(図1,2)

アトルバスタチン投与群および非投与群ともステロイド投与前に比べてステロイド投与後のT-choの平均値は有意に上昇した。アトルバスタチン投与群13例中7例(54%)、非投与群10例中8例(80%)に高脂血症(T-cho >220mg/dl)を認めた。また、アトルバスタチン投与・非投与両群間でT-cho、TGに有意差を認めなかった。

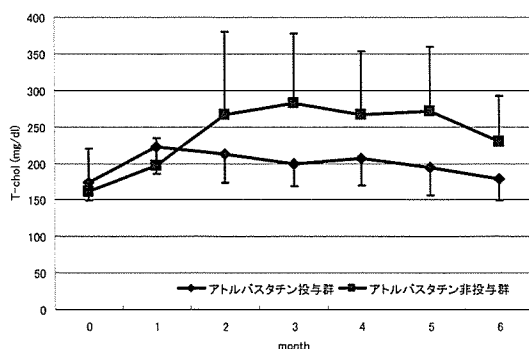


図1. ステロイド投与後のT-cho

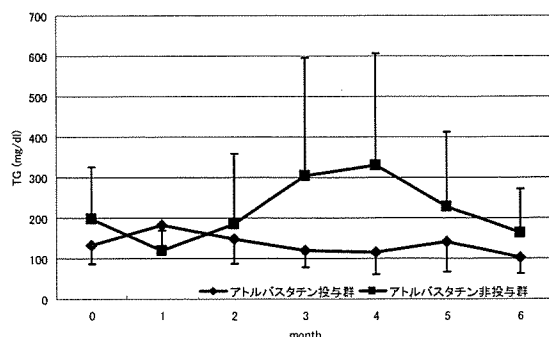


図2. ステロイド投与後のTG

2) ION発生の有無と血液生化学所見

ION発生例ではT-choの平均値および最大値がION非発生例に比べて有意に高かった(図3 表4)。また、有意差は認めなかったものの、ION発生例では非発生例に比べてステロイド投与前からTGが高く維持され(p=0.05)、ステロイド投与後のIgGの減少が大きい傾向を認めた(図4,5 表4)。抗カルジオリピン抗体、ステロイド投与量、パルス療法の有無に関してはION発生の有無で有意差は認めなかった。

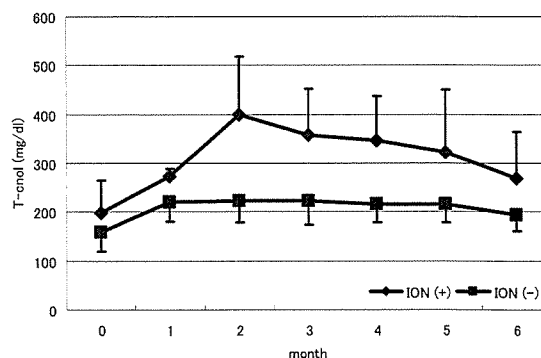


図3. IONの発生とT-cho

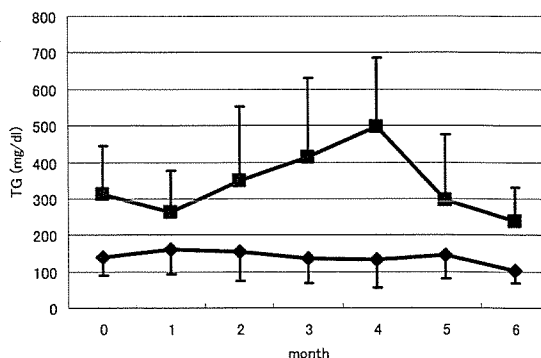


図4. IONの発生とTG

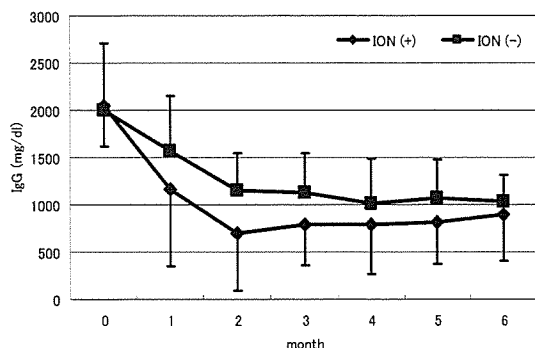


図5. IONの発生とIg-G

表4. ION発生例とT-chol, TG

	ION (+)	ION (-)	p
T-chol 平均値	297 (233-352)	201 (122-266)	*0.03 × 10 ⁻³
TG 平均値	307 (192-404)	127 (69-206)	*0.05

(mg/dl) *Welch's t-test

4. 考察

A. 本研究におけるION発生率

ステロイド投与後のIONはステロイド投与後3～6カ月の早期に発生する可能性が高い^{2,5)}。アトルバスタチンを併用した群においてはステロイド治療開始後6ヵ月以上経過した13例中1例もIONの発生を認めておらず、今後もIONが発生する可能性は低い。統計学的に有意ではなかったものの、アトルバスタチンによるION予防効果が期待できる。

わが国のSLE症例におけるIONの発生率は約30%とされている⁶⁾。本研究でのION発生率は途中で高脂血症治療薬を開始した症例も含めると30例中4例(13%)、高脂血症治療薬を用いていないSLE症例では10例中2例(20%)であり、以前の報告より発生率は低い。これは、IONの危険因子とされるステロイドパルス療法の頻度が30例中5例(17%)と少ないことが関連している可能性がある。

B. ION発生と血液生化学所見

ステロイド投与後にT-chol値が有意に上昇した。アトルバスタチンを投与することによってT-cholの上昇はある程度抑制されるものの、その効果は有意ではなかった。このことから、アトルバスタチンにION予防効果があるならば、その機序は高脂血症の抑制だけではなく、近年報告されているスタチンのもつ多面的作用が関連している可能性がある

と考える。

ステロイドの薬理作用としてT-cholとTGの増加、IgGの低下が知られている。ION発生例ではステロイド投与後にION非発生例に比べてT-cholが有意に高値となり、TGが高く維持され、IgGが速やかに低下する傾向を示した。ION発生例ではステロイドの薬理作用がION非発生例に比べて増強している可能性がある。現在、当研究班の遺伝子グループが進めている薬剤感受性評価の研究およびそれに基づくテーラーメイドメディスンによるIONの発生予防が有望であると考えられる。

C. 今後の展望

現在、本研究は多施設共同研究で行っている。初発のSLE症例で過去にステロイド投与を受けていないものは非常に限られており、症例数を集めることが困難なためである。平成18年度内の目標症例数には達したものの、まだアトルバスタチンによるIONの有意な予防効果は確認できていない。しかし、アトルバスタチン投与群ではIONの発生を認めておらず、ION予防法としての可能性は大きいと考えている。今後も引き続き症例数を増やし、IONの信頼性の高い予防法の確立を目指す。

5. 結論

- (1) ステロイドを初めて用いるSLE初発患者に対してアトルバスタチンを併用して6ヵ月以上経過した13症例でIONの発生を認めなかった。
- (2) アトルバスタチンを投与しなかった群では10例中2例にIONの発生を認めた。
- (3) アトルバスタチンの併用の有無にかかわらずステロイド投与後にはT-cholが有意に増加した。
- (4) IONの発生例では非発生例に比べてT-cholが有意に上昇していた。脂質代謝の異常がIONの発生に関与している可能性がある。
- (5) アトルバスタチンにION予防効果があるならば、高脂血症抑制以外の作用機序も関与している可能性がある。
- (6) ION発生例ではステロイドの薬理作用が増強している可能性があり、各症例に最適なステロイド量を設定することでIONの発生を抑制で

きる可能性がある。

6. 研究発表

1. 著書
なし
2. 研究発表
なし

7. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

8. 参考文献

- 1) 福島若葉, 廣田良夫ほか: 特発性大腿骨頭壊死症の全国疫学調査-中間報告-. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 特発性大腿骨頭壊死症の予防と治療の標準化を目的とした総合研究. 平成 17 年度総括・分担研究報告書, 1-6, 2006.
- 2) Kubo T. et al. Initial MRI findings of non-traumatic osteonecrosis of the femoral head in renal allograft recipients. Magn Reson Imaging 15:1017-23, 1997.
- 3) Cui Q. et al. Lovastatin prevents steroid induced adipogenesis and osteonecrosis. Clin Orthop 344: 8-19, 1997.
- 4) Pritchett, JW. Statin therapy decreases the risk of osteonecrosis in patients receiving steroids. Clin Orthop Rel Res 386: 173-178, 2001.
- 5) Nagasawa K, Tada Y, Koarada S, et al: Very early development of steroid-associated osteonecrosis of femoral head in systemic lupus erythematosus: prospective study by MRI. Lupus 14: 385-390, 2005.
- 6) 長澤浩平: ステロイド治療と骨壊死. 日本医事新報 4099: 19-25, 2002

抗凝固薬とスタチン併用によるステロイド性大腿骨頭壊死症予防の試み

—長期予見的研究—

長澤浩平、小荒田秀一

堀内孝彦

末松栄一

(佐賀大学医学部 膠原病リウマチ内科)

(九州大学大学院医学研究院 病態修復内科学)

(国立病院機構九州医療センター 膠原病内科)

我々は一貫して全身性エリテマトーデス(SLE)におけるステロイド性大腿骨頭壊死症(IONF)の発生・発症の機序・様式、及びその予防研究を行ってきた。2002年からは、抗凝固薬(ワルファリン)と抗高脂血症薬(スタチン)の併用によりIONFの予防を試みる長期予見的研究を開始した。この間、MRIによるONF発症の評価可能例数は17例に達した。現時点でのONFの発生は3例(18%)、発症は1例(5.9%)に抑えられ、従来のワルファリンのみによる予防法を上回る傾向を見せている(まだ有意差は認められない)。さらに症例の集積が必要であるが、予防法としては有望である。

1. 研究目的

ステロイド性的大腿骨頭壊死症(IONF)を惹き起こす基礎疾患は多岐にわたるが、中でも全身性エリテマトーデス(SLE)が抜きんでて多いことは以前からよく知られている。我々を含めた多くの研究において、ステロイド投与を受けたSLE患者の約30%にIONFが発生し、その1/3の約10%に臨床的なIONFの発症が見られるとされている¹⁾。ステロイド性IONFの発生・発症には多くの

要因が挙げられ、単一の決定的要因はなさそうである。

我々は従来から、大量のステロイドやSLEの病態によって惹き起こされる血液凝固異常や血管障害を重視し、ワルファリンを使用することにより、IONFの予防を試みってきた。

しかし、その結果から明らかになったのは、ワルファリンはIONFの予防にある一定の効果はあるものの、有意差を示すまでには至らなかったことであつた²⁾。

表1. ステロイド性大腿骨頭壊死症予防研究プロトコール

対 象:	プレドニゾン(PSL)換算40mg/d以上を使用するSLEの初発患者
除外例:	1) 消化性潰瘍を有する患者、出血傾向のある患者、血小板7万 μ l以下の患者 2) 高血圧(収縮期圧150mmHg以上)患者 3) 妊娠中、あるいは妊娠の可能性のある患者 4) 肝障害(AST,ALT>100IU/l以上)、あるいは腎障害(Ccr<50ml/min)を有する患者
使用薬剤:	1) ワルファリン: ステロイド治療開始と同時に併用を開始し、3ヵ月目まで続行。以後中止。投与量はPT-INRで、1.5~2.0になるように調整。 2) スタチン: ステロイド治療開始と同時に、シンバスタチン10mg/d、あるいはアトルバスタチン10mg/dを当初の高脂血症の有無にかかわらず投与。最低3ヵ月間続行。
コントロール:	今回は症例数の関係でコントロールを置かず、比較対象としてはこれまでの蓄積データを使用。
観察項目:	画像検査: 大腿骨頭の単純X線、及びMRI検査をステロイド治療開始後、3ヵ月、以後は1年毎に5年目まで行なう。 血液・尿検査: 通常のSLE患者の経過観察に準ずる。但し、上記の観察時には、総コレステロール、中性脂肪、APTT、抗カルジオリピン抗体検査を必ず含む。

最近、ステロイド性 IONF の発生要因として、ステロイドによる脂質代謝異常や脂肪細胞の増大などが脚光を浴びている。そして、抗高脂血症薬が実験動物におけるステロイド性 IONF の予防に効果があることが示された³⁴⁾。ヒトでも同様の報告が散見されるが、まだ信頼すべき臨床試験はない³⁾。そこで本研究では、大量のステロイドを必要とする SLE 患者に対し、ワルファリンとスタチンを同時投与することにより、IONF の発生・発症を予防することを目的とした。

2. 研究方法

表1に本臨床研究の概略を示した。2002 年以降に新たに SLE を発症した患者のうち、プレドニゾロン(PSL) 40mg/日以上を必要とし、本試験への参加の同意を得た患者を対象とした。ただし、以下の項目のうち、1つでも有する患者は除外した。すなわち、①血小板減少の患者、②高血圧を有する患者、③中等度以上の肝、あるいは腎障害を有する患者、④妊娠している、あるいは妊娠の可能性のある患者。PSL 投与開始と同時にワルファリン、及びスタチンの併用投与も開始した。ワルファリンは PT-INR で 1.5~2.0 を保つように投与量を調節し、スタチンはシンバスタチン 10mg/日、あるいはアトルバスタチン 10mg/日をともに最低 3 ヶ月間投与した。

ステロイド治療開始後、最初は 3 ヶ月後、以後 1 年毎に股関節の MRI、及び X 線検査を行なった。MRI の T1

強調画像で、大腿骨頭部に帯状の低信号域を認めた場合、これを IONF の「発生」とした。またこれに加え、単純 X 線像で圧潰像、あるいは帯状硬化像を認めるか、あるいは持続的な股関節痛を認めた場合に IONF の「発症」と定義した。IONF の発生・発症状況は従来行なっていたワルファリン単独による IONF 予防研究の際の成績と比較検討した。

本研究は佐賀大学医学部附属病院臨床研究審査委員会(IRB)の承認を受け、患者からは文書による同意を得た。

3. 研究結果

1) 患者背景(表 2)

登録を行って 1 年以上経過し、IONF の発生の有無を評価できたのは 17 例(男 3 例、女 14 例)に達した。年齢は 19 歳~67 歳(平均 36 歳)であった。腎症は 10 例(59%)に、CNS ループスは 5 例(29%)にみられ、中等症以上の SLE であった。PSL 初期量は平均 49mg/日であったが、ステロイドパルス療法は 4 例(24%)に対して行われただけで、以前より少ない傾向にあった。ワルファリンの投与量は平均 3.1mg/日で、スタチンはシンバスタチンが 9 例に、そしてアトルバスタチンが 8 例に使用され、ほぼ拮抗していた。治療前の血清総コレステロール値の平均は 151mg/dl とむしろ低い傾向にあった。

表2. 患者背景とIONF発生

No	性	年齢	腎症	CNS	PSL量	パルス	Wa量	スタチン	Tcho	IONF発生	
1	M	20	-	-	50	-	3	シ	94	-	
2	F	33	+	-	50	-	2	ア	240	-	
3	M	19	-	-	40	-	3	ア	91	-	
4	F	45	+	-	50	-	4	シ	194	+	
5	F	37	+	-	50	-	2	ア	151	-	
6	F	22	+	-	50	-	2	ア	144	-	
7	F	54	-	-	40	-	3	シ	158	-	
8	F	52	+	+	50	-	3	ア	139	+	
9	F	28	-	+	50	+	6	ア	137	-	
10	F	25	+	+	50	+	4	ア	136	-	
11	F	55	+	+	50	+	5	シ	148	-	
12	F	67	+	-	50	-	2.5	シ	273	-	
13	F	50	-	-	40	+	2.5	シ	189	-	
14	F	23	-	-	50	-	1.5	ア	145	+	
15	F	26	-	+	50	-	1	シ	135	-	
16	M	30	+	-	60	-	4.5	シ	84	-	
17	F	28	+	-	40	-	3.5	シ	109	-	
M3,F14			36	10	5	49	4	3.1	ア8,シ9	151	3 (18%)

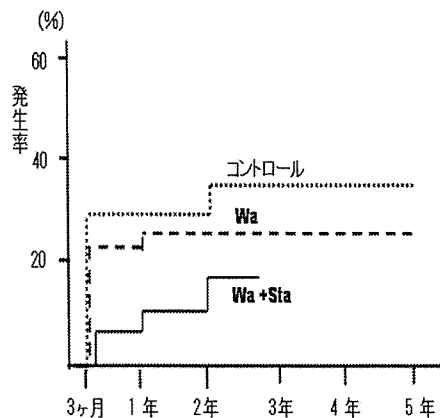


図1. IONFの経時的発生状況

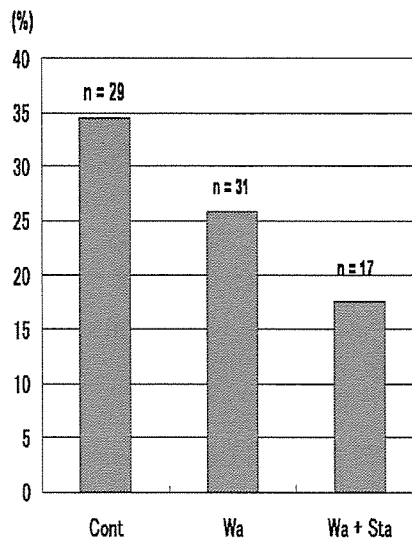


図2. IONFの予防法と発生率

Wa: ワルファリン Sta: スタチン

表3. IONFの発生・発症と予防方法

	予 防 方 法		
	(-)	Wa	Wa + Sta
患者数	29(M3, F26)	31(M3, F26)	17(M3, F14)
平均年齢	29.8(15-50)	30.2(13-50)	36.1(19-67)
PSL初期量	54mg/d	51mg/d	49mg/d
パルス(+)	15 (52%)	14 (45%)	4 (24%)
腎 症	21 (72%)	20 (66%)	10 (59%)
抗リン脂質抗体	8 (28%)	4 (13%)	5 (29%)
IONF発生	10 (34%)	8 (26%)	3 (18%)
IONF発症	4 (14%)	2 (6.5%)	1 (5.9%)

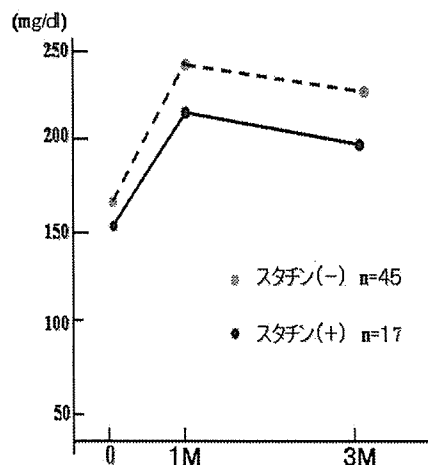


図3. 治療開始後の血清総コレステロール値の変化

2) IONFの発生・発症

表2の右欄に示すように、IONFの発生は症例4、8、及び14の3例(18%)に認められた。このうち、1例は3ヵ月目に、他の2例は各々1年目、及び2年目にMRIにより発生が確認された(図1)。また、症例14は1年目に臨床的な発症も認められた。発症は現在この1例(5.9%)のみである。本研究でIONFが発生した3例について臨床的特徴の有無について検討した。全例女性であり、平均年齢は40歳と全体の平均に比べやや高齢であった。2例が腎症を、そして1例がCNSループスを有していたが、抗リン脂質抗体は全例で陰性であり、PSL初期投与量は50mg/日と全体の中でも平均的であった。また全例がステロイドパルス療法未施行例で、特にSLEが重症というわけではなかった。血清総コレステロール

値治療前が平均159mg/dl、開始1ヵ月後は228mg/dlと69mg/dlの上昇を示し、これもほぼ平均的であった。スタチンの種類では、1例がシンバスタチンを、2例がアトルバスタチンを使用していた。

3) 従来との比較

今回のこれまでの成績を従来の予防処置をしないコントロール群、及びワルファリンのみによる予防群と比較した(表3、図2)。IONF発生はコントロール群の34%、及びワルファリン群の26%に比べ、今回のワルファリン+スタチン群では18%と低い傾向を示しているが、症例数が少ないため有意の差とはいえない。IONF発症についても同様であった。臨床的なパラメーターを検討しても、3群間で大きな差はないが、ステロイドパルス療法だけが今回のワルファ

リン+スタチン群で少なかった。

4) 血清総コレステロール値の変化

ワルファリン+スタチン群における血清総コレステロール値は、治療前、1ヵ月後、及び3ヵ月後でそれぞれ151、216、198mg/dlであり、ステロイド開始1ヵ月後にピークを示すのはスタチン非投与の場合と変わりがなかった。このように、スタチンを使用しても大量のステロイドを投与すれば、コレステロール値はピークの最初の1ヵ月間に65mg/dlの上昇があることがわかる。従来のスタチンを使用しなかった場合は、1ヵ月間に90mg/dlの上昇があり、スタチンにより25mg/dlの上昇の抑制がみられた(有意差なし)(図3)。また、シンバスタチンとアトルバスタチンの間にコレステロール上昇抑制の程度に差はみられなかった。

4. 考察

ステロイド性IONFの発症要因としては、血液凝固能の亢進、血管内皮傷害、脂質代謝の急激な変動、脂肪細胞の増大などによる骨髄内圧の上昇などが考えられてきた。我々は本研究の前に、血液凝固能亢進に的を絞り、ワルファリンを用いた抗凝固療法によるIONFの発生・発症予防を試みた。合計60例のSLE患者による予見研究の結果は、ワルファリンはIONFの発生・発症をある程度抑えるものの、有意差を得るには至らないというものであった²⁾。しかし、その臨床研究の過程において、ステロイドの大量投与を行うと、血清総コレステロール値は1ヵ月間に急激な上昇(約90mg/dl/月)を示すこと、そしてIONFを発生した患者ほどその上昇の程度が著明であることが明らかになった⁶⁾。さらに近年、抗高脂血症薬が実験動物やヒトの一部でもIONFの発生・発症を抑制することを示唆する報告が散見されるようになった。

このような背景の下に、本研究ではステロイド性IONFの予防法の確立を目指し、ワルファリンに加えてスタチンを併用投与する臨床試験を開始し、なおその途上にある。両者の併用期間を最低3ヵ月間としたのは、IONFは多くが3ヵ月以内に「発生」すること、及び血清総コレステロールの急激な上昇はステロイド投与開始初期に起こるという事実によった。1年以上経過して評価できた17例のうち、IONFの発生は18%、発症は5.9%であり、従来法より予防効果は高いようにみえるが、まだ有意差は得られていない。逆に、この方法によっても予防は完全ではないといえる。また、このことはIONFの発生・発症機序が単純なものではないということも示唆している。

我々を含むいくつかの研究から、ステロイド性IONFの発生はステロイド開始後3ヵ月以内という早期に起こること

が明らかにされている⁶⁾。ところがスタチンを使用した今回の研究においては、IONFを発生した3例のうち1例は1年目、他の1例は2年目にそれが起こっていた。スタチンはIONFの発生を完全に抑えることはできないにしても、あるいはそれを遅らせる作用があるのかもしれない。また、これまでステロイドパルス療法が大きな危険因子と考えてきたが、今回IONF発生の3例はいずれもパルス療法を受けておらず、平均的なSLEであり、平均的な治療法であった。従ってその理由は不明である。

本臨床研究ではスタチンの通常量を用いているが、ステロイド大量投与した場合、血清総コレステロール値は約60mg/dl/月上昇し、約30%の抑制効果を示したにすぎなかった。それでもIONF発生の抑制効果が示されるとすれば、それはスタチンのいわゆる多面効果(抗血栓作用、抗炎症作用、血管内皮保護作用、免疫抑制作用、抗酸化作用、など)⁷⁾によるのか、あるいはワルファリンとの相加、相乗効果が表われた結果であろう。スタチンの増量、あるいは投与期間の延長が更なるIONF予防の改善につながる可能性はある。

5. 結論

中間的な結論としては、ワルファリン+スタチンの同時併用投与はSLEにおけるステロイド性IONFの予防効果を高める意味で有望である。しかし、17例という数は少なく、更なる症例の集積が必要である。

6. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nagasawa K, Tada Y, Koarada S, Horiuchi T, Tsukamoto H, Murai K, Ueda A, Yoshizawa S, and Ohta A.: Very early development of steroid-associated osteonecrosis of femoral head in systemic lupus erythematosus: prospective study by MRI. *Lupus* 14: 385-390, 2005.
- 2) Nagasawa K, Tada Y, Koarada S, Tsukamoto H, Horiuchi T, Yoshizawa S, Murai K, Ueda A, Haruta Y and Ohta A.: Prevention of steroid-induced osteonecrosis of femoral head in systemic lupus erythematosus by anti-coagulant. *Lupus* 15: 354-357, 2006.

2. 学会発表

- 1) 長澤浩平、多田芳史、小荒田秀一、春田善男、三田村未央、末松栄一、堀内孝彦:ステロイド性大腿骨頭

壊死症は予防できるか？—抗凝固薬とスタチンによる試み— 第 50 回日本リウマチ学会総会 2006. 4.23-26, 長崎.

7. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

8. 参考文献

1. Nagasawa K, Tsukamoto H, Tada Y, et al: Imaging study on the mode of development and changes in avascular necrosis of the femoral head in systemic lupus erythematosus: Long-term observations. *Br J Rheumatol* 33: 343-347, 1994.
2. Nagasawa K, Tada Y, Koarada S, et al: Prevention of steroid-induced osteonecrosis of femoral head in systemic lupus erythematosus by anti-coagulant. *Lupus* 15: 354-357, 2006.
3. Cui Q, Wang GJ, Su CC and Balian G: Lovastatin prevents steroid induced adipogenesis and osteonecrosis. *Clin Orthop Rel Res* 344: 8-19, 1997.
4. Motomura G, Yamamoto T, Miyanishi K, et al:
5. Combined effects of an anticoagulant and a lipid-lowering agent on the prevention of steroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Arthritis Rheum* 50: 3387-3391, 2004.
6. Pritchett JW: Statin therapy decreases the risk of osteonecrosis in patients receiving steroids. *Clin Orthoped Rel Res* 386: 173-178, 2001.
7. Nagasawa K, Tada Y, Koarada S, et al: Very early development of steroid-associated osteonecrosis of femoral head in systemic lupus erythematosus: prospective study by MRI. *Lupus* 14: 385-390, 2005.
8. Liao JK: Beyond lipid lowering: the role of statins in vascular protection. *Int J Cardiol* 86: 5-18, 2002.

全身性エリテマトーデス患者におけるステロイド性 大腿骨頭壊死症に対する抗高脂血症剤の予防効果の検討

関谷文男、山路 健 (順天堂大学医学部 膠原病内科)
梁 広石、津田裕士(順天堂東京江東高齢者医療センター 内科)

全身性エリテマトーデス(SLE)患者に対する副腎皮質ステロイド剤投与による特発性大腿骨頭壊死症(ION)発生には、脂質代謝の変化、血液凝固亢進などが関与していると考えられている。抗高脂血症剤、抗凝固剤のION発生を抑制する作用が期待されることから、ここでは副腎皮質ステロイド剤を大量投与するSLE症例において、抗高脂血症剤のION発生に対する予防効果を検討した。プレドニゾロン換算0.5mg/kg/日以上(ステロイドパルス療法を含む)に増量したSLE患者を抗高脂血症剤の投与および非投与群に分け、ステロイドパルス療法施行の有無や飲酒習慣の有無、脂質代謝異常の変化について評価した。現在1年以上経過を追うことができたSLEステロイド増量症例は5例であり、そのうち1例にIONの発生を認めた。発生例は抗高脂血症剤非投与群であり、ステロイド増量後に脂質代謝異常が認められ持続していた。全例で高脂血症を認めるが、スタチン剤投与群2例ではION発生を認めておらず、非投与群に比しステロイド増量後早期の脂質の上昇が抑えられており、スタチン剤のION発生予防効果が期待される。

1. 研究目的

SLE患者で副腎皮質ステロイド剤を維持量から中等量以上(プレドニゾロン換算で0.5mg/kg以上)に増量した症例において、特発性大腿骨頭壊死症(Idiopathic osteonecrosis of the femoral head; ION)の発生がみられるか、および高脂血症のコントロールによりIONの発生が予防できるか検討する。

T-CHO:正常値 150~219mg/dl・中性脂肪値(以下TG:正常値 30~149mg/dl)など血清脂質の推移、およびMRIにてIONの発生を観察する。

2. 研究方法

①対象患者

プレドニゾロン(以下PSL)換算で0.5mg/kg/day以上に増量(ステロイドパルス療法を含む)する20歳以上65歳以下のSLE患者

②除外患者

1. 妊娠を希望する女性患者
2. 重篤な肝障害、腎機能障害(Cr 2.0mg/dl以上)、心疾患を有する患者
3. 担当医が不相当と判断した患者

上記条件を満たすSLE患者において、副腎皮質ステロイド剤増量時にMRI検査を施行しIONが存在しないことを確認し、その後の総コレステロール値(以下

3. 研究結果

1) SLEステロイド増量症例

表1 SLEステロイド増量症例

	年齢	性別	標的病態	PSL mg/day 前→後	パルス回数 過去 今回	抗高脂血症剤
①	21	F	LN	6→60	2 0	アトルバスタチン10mg →プラバスタチン10mg
②	21	F	LN	10→50	0 1	アトルバスタチン10mg
③	31	F	AIH	12→100	2 3	—
④	43	F	LN	5→50	0 0	—
⑤	25	F	CNS	12→30	0 0	—

F:女性 PSL:プレドニゾロン

LN:ループス腎炎 AIH:自己免疫性肝炎 CNS:CNSループス

表1に現在まで1年以上経過を追うことができた5症例の概要を示し、また表2、表3にスタチン剤投与群・非投与群別にそれぞれのステロイド増量後3ヶ月間の血清脂質の変化とIONの発生について示した。

スタチン剤投与群は2例であり、平均年齢は21.0歳で2例とも女性であった。症例①はループス腎炎再燃に対してPSL60mg/day(1mg/kg)に増量された。アトルバスタチン10mgを開始され、途中副作用のためプラバスタチン10mgに変更された。ステロイド増量15ヶ月後のMRIにおいてION発生を認めていない。症例②はループス腎炎再燃に対してステロイドパルス療法を1回施行後、後療法としてPSL50mg/day(1mg/kg)を投与された。アトルバスタチン10mgを開始され、12ヵ月後のMRIにおいてION発生を認めていない。

一方スタチン非投与群は3例であり、平均年齢は33.0歳で3例とも女性であった。症例③は自己免疫性肝炎に対して今回ステロイドパルス療法を3回施行され、後療法としてPSL100mg/day(2.2mg/kg)に増量された。17ヵ月後のMRIにおいてIONの発生は認めていない。症例④はループス腎炎再燃に対してPSL50mg/day(1mg/kg)に増量されたが、14ヶ月後のMRIにおいてIONの発生を認めていない。症例⑤は13歳の発症時と21歳の再燃時にそれぞれPSL最高60mg/dayの投与歴があり、過去2回のステロイド大量投与によるIONの発生は認めていない。今回は26歳で再燃しPSL30mg/day(0.7mg/kg)に増量され高脂血症が出現したが、抗高脂血症剤は投与されずステロイド剤増量から8ヶ月後にION発生を確認した。スタチン投与群のT-CHO値に関して、平均値は203.2mg/dl、最高値240.5mg/dlと非投与群の282.0mg/dl、337.0mg/dlより低値であった。平均値と最高値を増量前の値で除した上昇度においても両者共にスタチン剤投与群で低値であった。またTG値に関しても平均値は123.5mg/dl、最高値172.5mg/dlであり非投与群の147.2mg/dl、204.3mg/dlより低値であった。上昇度もスタチン剤投与群で低値であり、これらよりスタチン剤投与群では非投与群よりステロイド増量後早期の脂質の上昇を抑制していた。

表4にION発生症例1例とION非発生症例4例における各因子の比較を示した。ION発生症例(症例⑤)は飲酒習慣を有しており、非発生例4例では認めていない。

表2-1 スタチン投与群におけるT-CHO値変化とION発生

	T-CHO 前値 (mg/dl)	T-CHO 平均値 (mg/dl)	T-CHO 最高値 (mg/dl)	T-CHO 平均値/前値	T-CHO 最高値/前値	ION 発生	観察期間 及びION 確認時期
①	218	212.7	241	0.976	1.11	-	15M
②	165	193.7	240	1.17	1.45	-	12M
平均	191.5	203.2	240.5	1.07	1.28	0/2	

表2-2 スタチン投与群におけるTG値変化とION発生

	TG 前値 (mg/dl)	TG 平均値 (mg/dl)	TG 最高値 (mg/dl)	TG 平均値/前値	TG 最高値/前値	ION 発生	観察期間 及びION 確認時期
①	165	119.2	174	0.722	1.05	-	15M
②	145	127.8	171	0.880	1.18	-	12M
平均	155	123.5	172.5	0.801	1.12	0/2	

表3-1 スタチン非投与群におけるT-CHO値変化とION発生

	T-CHO 前値 (mg/dl)	T-CHO 平均値 (mg/dl)	T-CHO 最高値 (mg/dl)	T-CHO 平均値/前値	T-CHO 最高値/前値	ION 発生	観察期間 及びION 確認時期
③	195	352.9	434	1.81	2.23	-	17M
④	188	276.8	309	1.47	1.64	-	14M
⑤	176	216.4	268	1.23	1.52	+	8M
平均	186.3	282.0	337.0	1.50	1.80	1/3	

表3-2 スタチン非投与群におけるTG値変化とION発生

	TG 前値 (mg/dl)	TG 平均値 (mg/dl)	TG 最高値 (mg/dl)	TG 平均値/前値	TG 最高値/前値	ION 発生	観察期間 及びION 確認時期
③	76	153.6	183	2.02	2.41	-	17M
④	80	175.4	213	2.19	2.66	-	14M
⑤	83	112.7	217	1.36	2.61	+	8M
平均	79.7	147.2	204.3	1.86	2.56	1/3	

2) その他のION発生症例

表5には今回のプロトコールに当てはまらないION発生症例4例を示した。症例⑥はCNSループスに対してステロイドパルス療法を3回施行、後療法としてPSL60mg/day(1.5mg/kg)に増量された。16週後よりアトルバスタチン10mgを投与されたが、15ヵ月後のMRIにてION発生を確認した。患者は大量飲酒・喫煙習慣を有していた。

症例⑦～⑨は新規に発症し副腎皮質ステロイド剤を開始され、その後IONが発生したSLE、皮膚筋炎、ANCA関連血管炎の症例である。症例⑦はPSLを0.5mg/kg、⑧は0.7mg/kg、⑨は1.0mg/kgで中等量～大量投与されていたがステロイドパルス療法はいずれの症例も施行されていなかった。症例⑦はSLEとしては腎症など臓器病変を認めず、発熱に対して副腎皮質ステロイド剤が開始された。飲酒習慣は特に認めなかったが、高脂血症を合併しIONが発生した。症例⑧は最高中性脂肪値485mg/dlと著しい上昇を認め、スタチン剤の効果も乏しく、大量飲酒・喫煙習慣も併せ持ち約9ヶ月後にION発生を確認した。症例⑨は全身性血管炎に対して副腎皮質ステロイド剤が投与され、他の症例に比べ脂質の上昇は軽度であったがIONの発生を認めた。抗高脂血症剤は投与されていなかった。

4. 考察

SLE患者で副腎皮質ステロイド剤を維持量から中等量以上(プレドニゾン換算で0.5mg/kg以上)に増量した5症例において、1例でIONの発生を認めた。過去2回のステロイド大量投与後にIONを認めなかったが、3回目の再増量においてION発生を認めた症例であり、初回投与時および投与後早期のみならずその後の再増量例、長期投与例においてもION発生の可能性が示唆された。

スタチン剤投与群・非投与群のステロイド増量後3ヶ月間の比較では、T-CHO値・TG値共に平均値や最高値、上昇度において投与群で低い傾向がみられた。スタチン投与群でもステロイド増量直後に一過性の高脂血症を認めるが、非投与例に比し高脂血症の改善が速やかであり、ION発生リスク軽減に関連している可能性がある。

またION発生症例・非発生症例での比較では、発生例で飲酒習慣を有しており非発生例では認めてい

なかった。その他のION発生症例のうち症例⑥と⑧においても大量飲酒の習慣を有しており、これらからION発生に対して危険因子として知られている飲酒習慣の関与が疑われる。スタチン剤の投与やステロイドパルス療法の有無にかかわらず、全例に高脂血症を認めるが、IONが発生しない症例が存在し、飲酒習慣など他の危険因子により発生が助長される可能性が示唆される。

表4 ION発生症例と非発生症例の比較

	ION 症例(n=1)	非ION 症例(n=4)
性別 男性	0	0/4(0%)
女性	1	4/4(100%)
年齢	26	29.0(21-43)
身長(cm)	151.3	156.4(151.8-160.4)
体重(kg)	43.1	53.4(45.4-61.0)
BMI(kg/m ²) ^a	18.8	21.8(18.2-23.7)
飲酒常習	1	0/4(0%)
喫煙常習	0	0/4(0%)
PSL 量(mg/day)	30	65.0(35-100)
(mg/kg)	0.70	1.29(0.92-2.20)
パルス療法	0	2/4(50%)
スタチン投与	0	2/4(50%)
T-CHO 平均値(mg/dl)	216.4	259.0(193.7-352.9)
最高値(mg/dl)	268.7	306(240-434)
平均値/前値	1.23	1.36(0.98-1.81)
最高値/前値	1.52	1.61(1.11-2.23)
TG 平均値(mg/dl)	112.7	144.0(119.2-175.4)
最高値(mg/dl)	217	185.2(171-213)
平均値/前値	1.36	1.45(0.72-2.19)
最高値/前値	2.611	1.83(1.05-2.66)

BMI: Body Mass Index 対象数以外の値は平均値(範囲)

表5 その他のION発生症例

	年齢	性別	疾患	PSL mg/day	パルス	抗高脂血症剤
⑥	42	F	ステロイド増量例 SLE再燃	60	3	ステロイド増量16週後 よりアトルバスタチン10mg
⑦	38	F	新規発症 SLE	30	0	ステロイド増量8週後 よりプラバスタチン10mg
⑧	47	M	新規発症 皮膚筋炎	50	0	プラバスタチン10mg →アトルバスタチン10mg
⑨	59	F	新規発症 ANCA関連血管炎	45	0	—

5. 結論

SLE 患者において、副腎皮質ステロイド剤を維持量から増量された症例で、ION への進展について検討を行っている。

抗高脂血症剤投与例において ION 発生例は認めておらず、ION 予防効果として期待できる。著しい脂質の上昇を認めているにもかかわらず ION は発生しない症例も存在しており、他の因子との関連とあわせ検討していく。

6. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

7. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし