

- 「コンピューターナビゲーションシステムの関節リウマチ患者 TKA における有用性とその問題点」
- 12) 第 8 回日本整形外科学会認定リウマチ医研修会 (2007.11.25) 東京 「関節リウマチ骨破壊の制御」
- 13) 第 1 回骨・軟骨フロンティア (2007.12.1) 東京 一般演題3 「骨軟骨における細胞死の制御」

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

なし

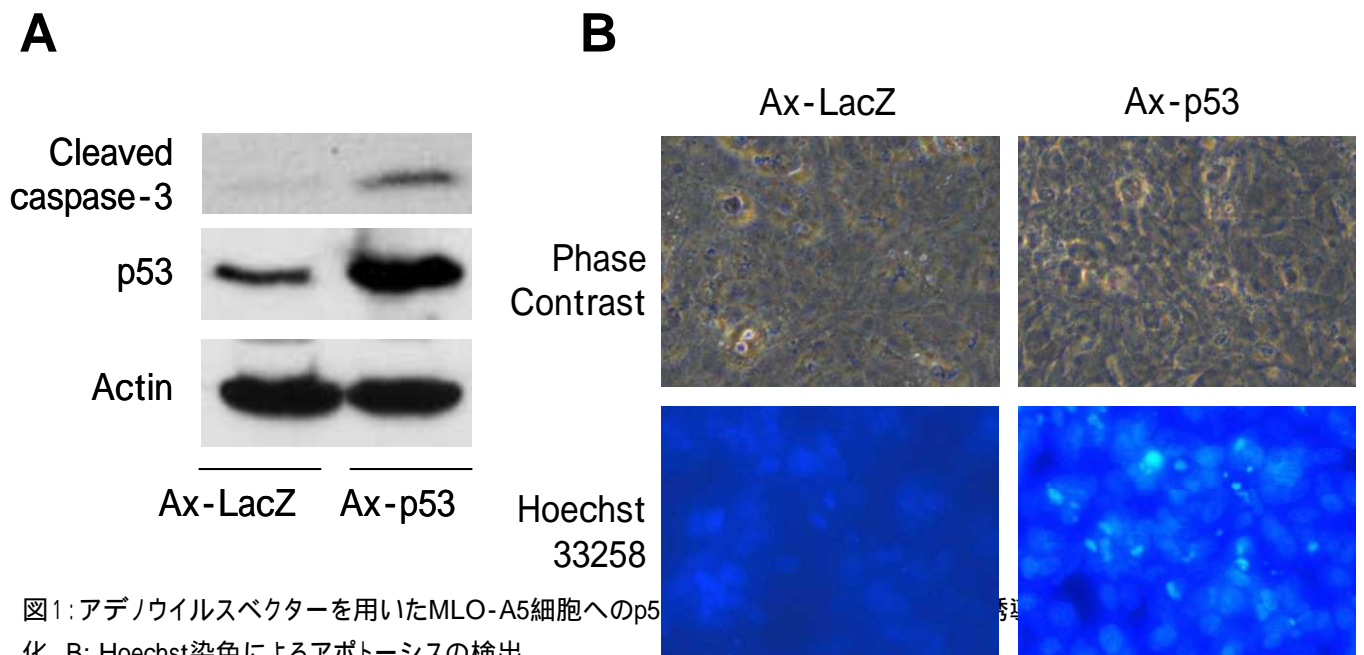


図1: アデノウイルスベクターを用いたMLO-A5細胞へのp53誘導によるp53活性化 B: Hoechst染色によるアポトーシスの検出。

# 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、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ステロイド性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、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 21 例中 4 例、アトルバスタチンの投与しなかった SLE 症例 23 例中 5 例において大腿骨頭壊死症が発生し、現在のところアトルバスタチンによる有意な予防効果は確認できていない。

## 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 quality of life を著しく侵す関節疾患である。ION 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 発生が増加しており全 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<sup>1)</sup>。しかしステロイドが ION 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。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の可能性が報告されている高脂血症治療薬について<sup>2,3)</sup>、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

対象とした基礎疾患は本邦におけるステロイド性 ION の基礎疾患として最多を占める SLE とした。20 歳以上 65 歳未満の SLE 初発患者で過去にステロイド治療を受けていない症例のうち、プレドニゾロンに換算して 0.5mg/kg/day 以上のステロイド

投与を開始するものを対象とし、文書で研究への協力を同意を得た。妊娠を希望する女性患者、重篤な肝障害、腎機能障害、心疾患を有する患者、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。

#### 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

血液検査としてステロイド開始前に抗リン脂質抗体を測定した。また月に 1 回総コレステロール値 (total cholesterol; T-chol) を測定してアトルバスタチン投与の有無、ION 発生の有無との関連を検証した。

#### 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 ヶ月後に行い、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。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 6 ヶ月以内に発生し、それ以後の発生はまれであることが示されている<sup>4,5)</sup>。この期間が ION 発生の予防に重要な時期である。6 ヶ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。

#### 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

登録されたアトルバスタチン投与群は 25 症例でそのうち 6 ヶ月以上経過観察できているのは 21 例 (男性 2 例、女性 19 例) である。平均年齢は 36 歳 (20-48 歳) であった。ステロイドの初期投与量はプレドニゾロン換算で平均 47mg/day、ステロイドパルス療法を受けた症例は 5 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 28 例で、6 ヶ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 23 例 (男性 2 例女性 21 例) であった。平均年齢は 48 歳 (20-63 歳)、ステロイド初期投与量はプレドニゾロン換算で 1 日平均 46mg/day、ステロイドパルス療法を受けた症例は 6 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 (-)
6ヵ月以上経過症例	21 (2:19)	23 (2:21)
平均年齢	36 ± 8.7	48 ± 15
ステロイド初期量	47 ± 12mg	46 ± 22mg
ステロイドパルス	5	6
アルコール愛飲歴	0	2
抗リン脂質抗体陽性	4	5

#### B. ION 発生率

ステロイド投与開始から 6 ヶ月以上を経過したアトルバスタチン非投与群では 23 例のうち 5 例で ION の発生を認めた。アトルバスタチン投与群 21 例での ION の発生は 4 例であった (表 2)。

ステロイド投与量、抗カルジオリピン抗体陽性症例数、パルス療法を施行した症例数に関して ION 発生の有無で有意差は認めなかった (表 3)。

表 2. ION 発生率

	アトルバスタチン (+) n=21	アトルバスタチン (-) n=23	p
ION 発生	4 (19%)	5 (22%)	*1

\*Fisher's exact probability test

表3 . ION発生の有無での比較

	ION (+)	ION (-)
症例数(男:女)	9 (3:6)	35 (2:33)
平均年齢	37 ± 14	37 ± 12
ステロイド初期量	57 ± 31mg	44 ± 12mg
ステロイドパルス	1	6
アルコール愛飲歴	1	2
抗リン脂質抗体陽性	2	2

### C. 血液生化学所見

#### 1) ステロイド投与後の T-chol (図 1)

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後の T-chol の平均値は有意に上昇し、両群間で有意差を認めなかった。

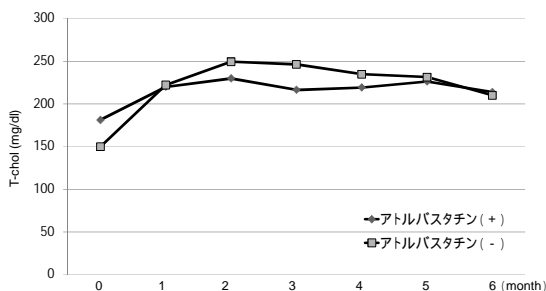


図1 . アトルバスタチンの有無とステロイド投与後T-chol

#### 2) ION 発生の有無と血液生化学所見

ION 発生例では T-chol の平均値が ION 非発生例に比べて有意に高かった(図 2)。

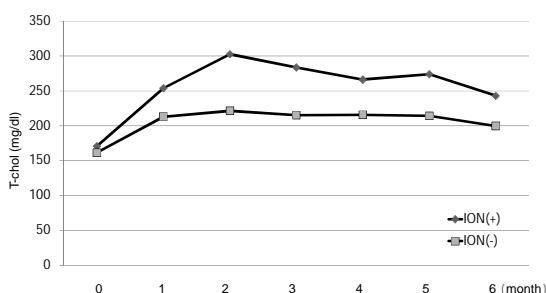


図2 . IONの発生とステロイド投与後T-chol

## 4. 考察

### A. 本研究における ION 発生率

アトルバスタチンを投与した群での ION 発生率は 19%、アトルバスタチン非投与群では 22%であった。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<sup>6)</sup>。本研究での ION 発生率は

両群を合わせて 20%であり、以前の報告より低かった。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 44 例中 7 例(16%)と少ないことが関連している可能性がある。本研究では、症例数が少ない段階ではアトルバスタチン投与群の方が ION 発生率が少ない傾向を認めていた。症例数が増えると有意な差になると期待していたが、実際には症例数が増えるに従ってその傾向が低くなってきた印象である。そして、現段階でステロイド投与後の ION に対するアトルバスタチンの有意な予防効果を認めていない。

Pritchett らはスタチンを内服していた患者におけるステロイド投与後の ION 発生率が 1%程度であったとして、スタチンが ION を予防する可能性について報告した<sup>3)</sup>。しかしこれは prospective な研究であり、コントロール群が設定されていないためスタチンの効果を厳密には評価できていない。また、SLE 症例を ION のハイリスクとして対象から除外している点は本研究と大きく異なる。スタチンの開始時期もステロイドに先行していた症例を選択しており、ステロイドと同時にスタチンの投与を開始した本研究とは異なる。これらの点で厳密にスタチンの ION 予防効果を評価した本研究の結果と差異が生じている可能性がある(表 4)。

表4 . Pritchettの報告との比較

	本研究	Pritchett らの報告 (Clin Orthop. 2001)
研究デザイン	RCT (case:21, control:23)	Prospective study n=284 (controlなし)
対象症例	初回ステロイド治療を受けるSLE症例	SLEなどIONのリスクが高い基礎疾患をもつものは除外
スタチン開始時期	ステロイドと同時	ステロイド投与前から内服
スタチンのION予防効果	ION発生率19% 予防効果は有意ではない。	ION発生率1% 予防効果をもつ可能性が高いと推察

### B. 血液生化学所見

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た。また、ION 発生症例ではステロイド投与後の T-chol が有意に上昇していた。脂質代謝異常が ION の発生に何らかの関連をもつ可能性や ION 発生症例でステロイドの薬理作用が増強している可能性は否定できない。

## 5. 結論

(1) 初回ステロイド治療を受ける SLE 症例を対象

にして、アトルバスタチンの ION 予防効果を多施設共同の Randomized controlled trial で検証した。

- (2) ION 発生率はアトルバスタチン非投与群で 22%, アトルバスタチン投与群で 19%であり, 両群間に有意差を認めなかった。
- (3) ION 発生例では非発生例に比べて T-chol が有意に高値を示した。
- (4) アトルバスタチン投与例ではステロイド治療開始後の T-chol 上昇をある程度抑制できた。
- (5) 基礎疾患, スタチンの開始時期によってステロイド性 ION に対するスタチンの予防効果が異なる可能性があると考えた。

## 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) Cui Q. et al. Lovastatin prevents steroid induced adipogenesis and osteonecrosis. Clin Orthop 344: 8-19, 1997.
- 3) Pritchett, JW. Statin therapy decreases the risk of osteonecrosis in patients receiving steroids. Clin Orthop Rel Res 386: 173-178, 2001.
- 4) 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.

- 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

# 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10例であり、そのうち3例にIONの発生を認めた。発生例は抗高脂血症剤投与群1例、非投与群2例であり、いずれの症例もステロイド増量後に高い脂質上昇率を認めた。一方スタチン剤投与群のION非発生例では、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。

## 2. 研究方法

### 対象患者

プレドニゾン(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(SLEはアメリカリウマチ協会1997年改訂基準を満たすものとする。)

### 除外患者

- 妊娠を希望する女性患者
- 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
- 担当医が不適当と判断した患者

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

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。

## 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一覧

	年齢	性別	標的病態	PSL mg/day		パルス回数		スタチン
				前	後	過去	今回	
	21	F	LN	6	60	2	0	アトルバスタチン10mg プラバスタチン10mg
	21	F	LN	10	50	0	1	アトルバスタチン10mg
	43	F	LN	5	50	0	0	-
	25	F	CNS	12	30	0	0	-
	35	F	AIHA	22.5	80	2	2	-
	41	F	WBC	20	40	1	0	-
	41	F	LN	20	55	0	0	アトルバスタチン10mg
	20	M	LN	13	65	0	2	アトルバスタチン10mg
	46	F	LN	15	60	0	1	アトルバスタチン10mg
	37	F	LN,胸膜炎	10	50	0	0	-
平均	33.0			13.4	54.0	3/10	4/10	5/10

M:男性、F:女性、LN:ループス腎炎、CNS:CNSループス、AIHA:自己免疫性溶血性貧血、WBC:白血球

表1に現在まで1年以上経過を追うことができた10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。また前値に関しては、ステロイド増量前3回の平均値とした。

スタチン剤投与群は5例であり、平均年齢は29.8歳で4例が女性、1例が男性であった。症例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。症例はループス腎炎再燃に対してPSL55mg/day(1mg/kg)に増量された。スタチン剤は投与されていたが、高いT-CHO値上昇率を示し、12ヵ月後のMRIにおいてION発生を認めた。症例はループス腎炎に対してステロイドパルス療法を施行後、後療法としてPSL1mg/kgを投与されたが、1年後のMRIにおいてもIONの発生は認めていない。

一方スタチン非投与群は5例であり、平均年齢は36.2歳で5例とも女性であった。症例はループス腎炎再燃に対してPSL50mg/day(1mg/kg)に増量され、T-CHOの最高値や平均値は高値を示したが、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歳で再び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。症例は自己免疫性溶血性貧血に対して、ステロイドパルス療法を複数回施行後に、後療法としてPSL80mg/day(1.5mg/kg)を投与されたにもかかわらず、脂質値上昇は軽微でありIONの発生も認めていない。症例は白血球減少に対してPSL1mg/kgに増量されたが、IONの発生は認めていない。症例はループス腎炎、胸膜炎に対してPSL50mg/day(1mg/kg)に増量され、著しく脂質値は上昇し14ヶ月後のMRIにて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188.8mg/dl、最高値234.0mg/dlと非投与群の236.5mg/dl、271.6mg/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127.7mg/dl、最高値159.0mg/dlであり非投与群の154.0mg/dl、205.2mg/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。なおスタチン投与群と非投与群間で各項目において統計学的有意差は認められなかった。

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上昇率 平均値 (%)	T-CHO上昇率 最高値 (%)	ION 発生	観察期間 及びION 確認時期
	221.3	212.7	241	-2.43	10.6	-	15M
	217.0	193.7	240	17.4	45.5	-	12M
	135.0	210.8	219	56.1	62.2	+	12M
	275.0	182.5	206	-35.8	-28.0	-	13M
	211.0	220.7	264	4.60	25.1	-	12M
平均	211.9±50.0	188.8±33.6	234.0±22.3	6.74±32.4	16.3±31.6	1/5	

表2-2 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上昇率 平均値 (%)	T-CHO上昇率 最高値 (%)	ION 発生	観察期間 及びION 確認時期
	191.0	276.8	309	44.9	61.8	-	14M
	174.0	216.4	268	24.4	54.0	+	8M
	116.7	168.0	187	44.0	60.2	-	12M
	185.0	261.8	290	4.50	56.8	-	12M
	173.0	259.3	304	49.9	75.7	+	14M
平均	167.9±29.6	236.5±44.4	271.6±49.9	33.5±18.9	61.7±8.39	2/5	

表3-1 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上昇率 平均値 (%)	TG上昇率 最高値 (%)	ION 発生	観察期間 及びION 確認時期
	127.3	119.2	174	-6.36	36.7	-	15M
	168.0	127.8	171	23.9	1.79	-	12M
	122.0	97.5	117	-20.1	-4.10	+	12M
	275.0	182.5	206	-33.6	-25.1	-	13M
	109.0	111.3	127	2.11	16.5	-	12M
平均	160.3 ± 67.8	127.7 ± 32.6	159.0 ± 36.6	-6.81 ± 21.9	5.16 ± 23.1	1/5	

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上昇率 平均値 (%)	TG上昇率 最高値 (%)	ION 発生	観察期間 及びION 確認時期
	138.3	175.4	213	26.8	54.0	-	14M
	113.3	112.7	217	0.53	91.5	+	8M
	104.3	78.3	92	-24.9	-11.8	-	12M
	85.7	112.5	134	31.3	56.4	-	12M
	290.3	291.0	370	0.24	27.5	+	14M
平均	146.4 ± 82.7	154.0 ± 84.2	205.2 ± 106.4	6.79 ± 22.8	43.5 ± 38.4	2/5	

表4-1 ION発生症例と非発生症例の比較

	ION症例 (n=3)	非ION症例 (n=7)
性別 男性	0/3 (0%)	1/7 (14.3%)
性別 女性	3/3 (100%)	6/7 (85.7%)
年齢	34.3 (25 - 41)	32.4 (20 - 46)
身長(cm)	154.7 (151.3 - 161.4)	156.3 (151.8 - 161.0)
体重(kg)	51.1 (43.1 - 56.2)	56.3 (46.8 - 66.0)
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	21.3 (18.8 - 24.5)	23.0 (19.8 - 25.5)
飲酒常習	2/3 (66.7%)	0/7 (0%)
喫煙常習	1/3 (33.3%)	0/7 (0%)

BMI: Body Mass Index  
対象数以外の値は平均値(範囲)

表4-2 ION発生症例と非発生症例の比較

	ION症例 (n=3)	非ION症例 (n=7)
前PSL量(mg/day)	14.0 (10 - 20)	13.1 (5 - 22.5)
後PSL量(mg/day)	0.273 (0.185 - 0.356)	0.212 (0.185 - 0.356)
後PSL量(mg/day)	45.0 (30 - 55)	57.9 (40 - 80)
後/前	0.867(0.696 - 0.979)	1.03 (0.756 - 1.54)
パルス療法 過去 今回	0/3 (0%) 0/3 (0%)	3/7 (42.9%) 4/7 (57.1%)
スタチン投与	1/3 (33.3%)	4/7 (57.1%)
T-CHO 前値(mg/dl)	160.7 (135 - 174)	202.4 (116.7 - 275.0)
平均値(mg/dl)	203.6 (135.0 - 259.3)	216.5 (168.0 - 261.8)
最高値(mg/dl)	263.7 (219 - 304)	248.1 (187 - 309)
上昇率 平均値 (%)	43.5 (24.4 - 56.1)	10.1 (-33.6 - 44.9)
上昇率 最高値 (%)	64.0 (54.0 - 75.7)	28.3 (-25.1 - 61.8)
TG 前値(mg/dl)	175.2 (113.3 - 290.3)	144.0 (109 - 275)
平均値(mg/dl)	167.1 (97.5 - 291)	129.6 (78.3 - 182.5)
最高値(mg/dl)	234.7 (117 - 370)	159.6 (92 - 213)
上昇率 平均値 (%)	-6.44 (-20.1 - 0.53)	2.75 (-33.6 - 31.3)
上昇率 最高値 (%)	38.3 (-4.10 - 91.5)	18.4 (-25.1 - 56.4)

対象数以外の値は平均値(範囲)

表4にION発生症例3例とION非発生症例7例における各因子の比較を示した。表4-1では、ION発生群と非発生群間において、年齢や体格などは同様であった。発生群3例のうち2例に飲酒習慣を認めた。表4-2ではステロイド剤の投与状況や脂質値の変化等を示した。増量後ステロイド量は非発生群の方が多く、またステロイドパルス療法投与歴も発生群では1例も認めなかった。脂質値上昇率では概ね発生群において高値を示した。

## 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6例を示した。症例は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～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、多発性筋炎の症例である。症例

はPSLを0.5mg/kg、症例は3.2mg/kg、症例は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。症例はSLEに血球貪食症候群を合併しステロイド剤を開始された。スタチン剤は非投与で、脂質値上昇および飲酒習慣も有しており、ION発生を認めた。症例は最高中性脂肪



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 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。症例 は多発性筋炎にステロイド剤が投与されたが、飲酒・喫煙習慣を併せ持ち、脂質値の上昇も著しく ION の発生を認めた。

表 6 にはこれら症例 ~ における脂質値の変化を示した。上昇率は高く、また多くは飲酒・喫煙習慣を有していた。

表5 その他のION発生症例一覧

	年齢	性別	疾患	PSL mg/day	パルス 回数	スタチン
	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
	38	F	新規発症 SLE	30	0	ステロイド開始8週後 よりプラバスタチン10mg
	33	M	新規発症 SLE	130	0	-
	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
	59	F	新規発症 ANCA関連血管炎	45	0	-
	55	F	新規発症 多発性筋炎・IP	50	0	-

表6 その他のION発生症例の脂質値

	前値 (mg/dl)	平均値 (mg/dl)	最高値 (mg/dl)	上昇率 平均値 (%)	上昇率 最高値 (%)
T-CHO	153.3	251.7	284.5	67.2	89.7
TG	142.0	227.8	314.7	90.1	154.9

\* 6名中4名に飲酒習慣・喫煙習慣を認めた

#### 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(プレドニゾロン換算で0.5mg/kg以上)に増量した 10 症例において、3 例で ION の発生を認めた。

過去のステロイド大量投与後に ION を認めなかったが、ステロイド再増量において ION 発生を認めた症例が存在し、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 発生群ではステロイド増量後の脂質値上昇度が高く、またその他の ION 発生症例においても同様であり、急激な脂質代謝の変化が ION 発生の誘因となっている可能性がある。スタチン剤投与群における ION 発生例ではその多くは、脂質値上昇率が高く脂質のコントロールが不良であり、このような場合スタチン剤投与のみでは ION 発生を予防できないと予想される。

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。

ステロイド剤投与量に関しては、ION 発生例より非発生例の方が用量やステロイドパルス療法投与回数が多く、興味深い結果であった。

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。

#### 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 発生を 5 例中 1 例に認めた。発生例では脂質の高い上昇度を認めた。スタチン投与下においても、脂質コントロール不良例では ION 発生を予防できない可能性がある。また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

# ワルファリンとスタチン同時投与によるステロイド性大腿骨頭壊死症の予防研究

長澤浩平、多田芳史、小荒田秀一（佐賀大学医学部膠原病リウマチ内科）  
堀内孝彦（九州大学大学院医学研究院 病態修復内科学）  
末松榮一（国立病院機構九州医療センター膠原病内科）

我々は 2003 年以来、大量ステロイド薬を必要とする初発 SLE 患者に対し、抗凝固薬であるワルファリン、及び抗高脂血症薬であるスタチンをステロイドと同時に投与することにより、大腿骨頭壊死症 (ONF) の発生・発症予防を試みている。半年以上を経過して ONF の発生を評価できる例が 21 例に達したので、現状を報告する。この 21 例中、ONF の発生が認められたのは 3 例 (14%) にとどまっており、従来の無処置コントロール群の 34%、及びワルファリン単独投与群の 26% に比べると良好な成績を示している。今後の更なる症例の集積が期待される。

## 1. 研究目的

ステロイド薬による副作用は多岐にわたるが、大腿骨頭壊死症 (ONF) は ADL を侵す点、あるいは手術を要する点などから、最も重要な副作用の 1 つである。基礎疾患では、全身性エリテマトーデス (SLE) が最も多いことはよく知られており、ステロイド投与を受けた SLE 患者の約 10% が ONF を発症するとされている。発症しないまでも、ONF が病理学的に発生するのはその約 3 倍に上る (1)。これまでの多くの研究から、ステロイド性 ONF の発生・発症には単一の原因ではなく、いくつかの要因の関与が考えられている。

ステロイド性 ONF に関しては、その予防法の確立が重要な課題であるが、これまでステロイド性 ONF 予防の信頼に値する臨床研究は内外を通じてほとんどなされていない。我々は 5 年前まで、ワルファリン投与によるステロイド性 ONF の予防研究を行ってきた。それは、ONF 発症の要因として、大量ステロイドによって生じる血液過凝固状態や血管障害を重要視したからであった (2)。しかし残念ながら、ワルファリンは ONF の予防にある一定の効果を示したものの、統計学的に有意性を示すまでには至らなかった (3)。

最近、ステロイド性 ONF の発生要因として、ステロイド大量投与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 ONF の予防に効果があることが示された (4, 5)。そこで、本研究では、大量のステロイド

薬を必要とする SLE 患者に対し、抗凝固薬であるワルファリンと抗高脂血症薬であるスタチンを同時投与することにより、ONF の発生・発症を予防することを目的とした。

## 2. 研究方法

2002 年以降に新たに SLE を発症し、プレドニゾロン (PSL) 40mg / 日以上を必要とし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、血小板数が 70,000 /  $\mu$ l 以下、収縮期血圧が 150mmHg 以上の高血圧、AST、ALT が 100IU/l 以上の肝障害、クレアチニンクリアランスが 50ml/min 以下の腎障害、妊娠中、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を開始した。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/日とともに最低 3 ヶ月間投与した。

ステロイド治療開始後、最初は 3 ~ 6 ヶ月後、以後は 1 年毎に股関節の MRI、及び 線検査を行った。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 ONF の「発生」とした。これに加え、単純線、圧潰像、あるいは帯状硬化像を認めるか、または持続的な股関節痛を認めた場合に ONF の「発症」と定義した。ONF の発生・発症の程度は従来行ったワルファリン単独による ONF 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倫理審査委員会 (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

#### 患者背景 (表1)

登録後1年以上を経過し、ONF の発生の有無を評価できたのは21例 (男4例、女17例) であり、年齢は19~75歳 (平均34.3歳) であった。登録、評価患者の背景を表1に示す。ループス腎炎は14例 (67%) に、CNSループスは5例 (24%) にみられ、また抗リン脂質抗体は6例 (29%) に認められるなど、SLE の重症度としては、中等症以上がほとんどであった。PSL の初期投与量は40~60mg/日 (平均49mg/日) であったが、ステロイドパルス療法は4例 (19%) に対して行われただけであった。ワルファリン投与量は1~6mg/日 (平均2.9mg/日) であり、スタチンはアトルバスタチンが11例に、シンバスタチンが10例に対して使用され、ほぼ拮抗していた。治療前の血清総コレステロール値は84~273mg/dl (平均151mg/dl) と病状を反映して、むしろ低い傾向にあった。

#### ONF の発生・発症

ONF の発生は3例 (14%) 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。最初の1例は3ヵ月目のONF 発生の確認後すぐに臨床的な発症を起し、後に手術に至った。ONF の発症は現在のところ、この1例 (4.8%) のみである。

これらの結果を、従来の予防処置をしないコントロール群、及びワルファリン単独による予防群と比較検討した (表2)。ONF の発生はコントロール群の34%、及びワルファリン群の26%に比べると、今回のワルファリン+スタチン群の14%は明らかに低いように見えるが、まだ症例数が十分とはいえない。ONF の発症からみても、同様の傾向である。臨床的なパラメーターを比較すると、3群間に大きな差異はないが、ただステロイドパルス療法の頻度が今回は19%と、他の2群の半分以下にとどまっていた。図1に3群におけるONF の発生状況を示す。この図からわかるように、他の2群に比べ、今回のワルファリン+スタチン群ではONF の発生が1年目や2年目など遅くなる傾向がみられた。

今回のワルファリン+スタチン群でONF を発生した3

表1. 登録患者背景 (2003~2007.12)

- ◆ 患者数: 21 (男:4, 女:17)
- ◆ 年齢: 19~75歳 (平均 34.3歳)
- ◆ ループス腎炎 (+): 14 (67%)
- ◆ CNSループス (+): 5 (24%)
- ◆ 抗リン脂質抗体 (+): 6 (29%)
- ◆ PSL最大投与量: 40~60mg/d (平均 49mg/d)
- ◆ ステロイドパルス (+): 4 (19%)
- ◆ ワルファリン量: 1~6mg/d (平均 2.9mg/d)
- ◆ スタチン: アトルバスタチン: 11例 (10mg/d)  
シンバスタチン: 10例 (10mg/d)
- ◆ Tchol値: 84~273 mg/dl (平均 151mg/dl)

表2. ONF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)	21 (M4, F17)
平均年齢	29.8 (15 - 50)	30.2 (13 - 50)	34.3 (19 - 75)
PSL初期量	54mg/d	51mg/d	49mg/d
パルス(+)	15 (52%)	14 (45%)	4 (22%)
腎 症	21 (72%)	20 (66%)	14 (67%)
抗リン脂質抗体	8 (28%)	4 (13%)	6 (29%)
ONF発生	10 (34%)	8 (26%)	3 (14%)
ONF発症	4 (14%)	2 (6.5%)	1 (4.8%)

例について、何らかの臨床的特徴があるか否かを検討した。すべて女性であり、3例の平均年齢は40歳と全体の平均に比べやや高齢であった。全例で抗リン脂質抗体は陰性、血小板数も正常範囲にあった。PSL 初期投与量は50mg/日と平均的で、ステロイドパルス療法は行っておらず、この3例がSLEとして特に重症というわけではなかった。また、疾患自体のステロイドに対する反応にも他の症例と差異はなかった。スタチンの種類では、2例がアトルバスタチンを、そして他の1例がシンバスタチンを使用しており、偏りはなかった。また、血清総コレステロールの平均値は、治療前、及び1ヵ月後が各々159mg/dl、228mg/dlと69mg/dlの上昇を示し、これもほぼ平均的であった。このようにONF を発生した3例に特別の臨床的特徴を見出すことはできなかった。

#### 血清総コレステロール値の変化 (図2)

ワルファリン+スタチン群における血清総コレステロ

ール値の平均は、治療前の 143mg/dl から、治療開始 1 ヶ月後、及び 3 ヶ月後にはそれぞれ 205mg/dl、及び 192mg/dl へと上昇した。最初の 1 ヶ月間の上昇値はスタチンを使用していたにも拘らず、62mg/dl であった。スタチンを使用していなかった従来成績では、1 ヶ月間の平均上昇値は 90mg/dl であったので、スタチンにより、28mg/dl の上昇の抑制効果が得られたことになる。

#### 4. 考察

ステロイド性 ONF は単一の原因で起こるものでないことは、これまでの多くの研究から想像されている。有力な発生・発症要因としては、血液凝固能の亢進、血管内皮障害、脂質代謝の急激な変動、脂肪細胞の増大による骨髄内圧の上昇、及び酸化ストレスの上昇などが候補として考えられてきた。我々は以前の retrospective な研究で、ONF の発症に、ステロイドによる血液凝固異常が関連するという成績を得た(2)。この成績を基に、SLE 患者に対し、ステロイド治療開始と同時にワルファリンを投与することにより、ONF の発生・発症の予防を目的とする予見的研究を行った。その結果は、表2、あるいは図1に示すように、ワルファリン投与は ONF の発生を抑制する傾向はみせたものの(34%から 26%へ減)、有意差を示すには至らなかった(3)。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、脂質代謝が大きな影響を受け、例えば血清総コレステロール値は最初の 1 ヶ月間に急激な上昇(約 100mg/dl/月)を示すこと、そして ONF 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(4, 5)不完全ではあるがヒトでも ONF の発生・発症を抑制することを示唆する報告(7)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 ONF の予防法の確立を目指し、ワルファリンに加えスタチンを同時投与する臨床試験を行っているところである。1 年以上経過して ONF の発生の有無を評価した 21 例のうち、ONF の発生は 3 例(14%)、発症は 1 例(4.8%)と従来の無処置群やワルファリン単独群に比べると、予防効果は高いように見えるが、まだ症例数が少ないことと、観察期間が短いことから断定はできない。また逆に、この同時併用療法によっても ONF の発生を完全には予防できていないことから、ONF の発生機序の複雑さを窺うことができる。予防できずに ONF を発生した 3 例の SLE 患者の検討からは、少なくとも臨床的所見には特別の特徴を見いだせず、ONF 発生には何らかの未知の要

因が働いていることも考えられる。これまでの我々を含めたいくつかの研究からは、ステロイド性 ONF の発生は 3 ヶ月以内の早期に起こることが示されていたが、今回のワルファリン + スタチンの同時投与では、ONF の発生が遅れる傾向が見え、この療法では ONF 発生の遅延効果もあるのかもしれない。

本研究では、通常量のスタチン投与を行なったが、ステロイドを大量投与した場合は血清総コレステロール値が最初の 1 ヶ月で約 60mg/dl 上昇し、約 30%の上昇抑制効果しか示さなかった。それでも ONF 発生抑制効果があるとすれば、それはスタチンのいわゆる多面効果(コレステロール低下作用、血管内皮保護作用、抗血栓作用、抗炎症作用、抗酸化作用、など)(8)によるのかもしれないが、その解明には今後の研究が待たれる。更なる成績の向上のためには、スタチンの増量、あるいは種類の選択も必要かもしれない。

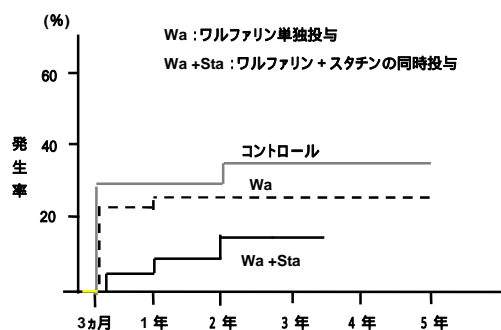


図1. ONFの発生状況

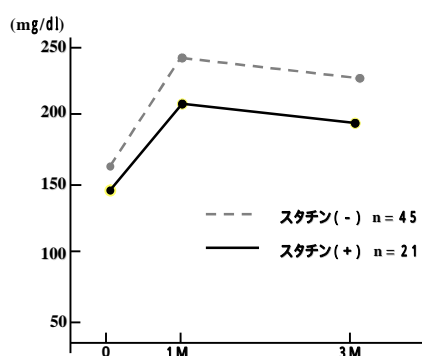


図2. 血清総コレステロール値の変化

#### 5. 結論

現時点での結論としては、ワルファリン + スタチンのステロイドとの同時投与は SLE におけるステロイド性 ONF

の予防策としては、完全でないまでも有望であるといえる。今後の更なる症例の集積が必要である。

## 6. 研究発表

### 1. 論文発表

長澤浩平：ここが知りたい他科知識 副腎皮質ステロイドと大腿骨頭壊死との因果関係は？ JOHNS 23(3): 361-362, 2007.

長澤浩平：ステロイド性大腿骨頭壊死症の病態と予防.九州リウマチ 27: 1-3, 2007.

### 2. 学会発表

長澤浩平：特別講演「SLE - Up to Date - 」第33回九州リウマチ学会 2007. 3.10. 大分.

長澤浩平：大腿骨骨頭壊死の病態と治療. スタチン. 第80回日本整形外科学会学術総会シンポジウム. 2007.5.27. 神戸.

## 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, Ishii Y, Mayumi T, et al: Avascular necrosis of bone in systemic lupus erythematosus: possible role of haemostatic abnormalities. Ann Rheum Dis 48: 672-676, 1989.
- 3) 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.
- 4) Cui Q, Wang GJ, Su CC and Balian G: Lovastatin prevents steroid induced adipogenesis and osteonecrosis. Clin Orthop Rel Res 344: 8-19, 1997.
- 5) Motomura G, Yamamoto T, Miyanishi K, et al:

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) 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.
- 7) Pritchett JW: Statin therapy decreases the risk of osteonecrosis in patients receiving steroids. Clin Orthop Rel Res 386: 173-178, 2001.
- 8) Liao JK: Beyond lipid lowering: the role of statins in vascular protection. Int J Cardiol 86: 5-18, 2002.

# ステロイド性大腿骨頭壊死症の遺伝子多型解析

## - 酸化ストレス関連物質を対象にして -

栗林正明、藤岡幹浩、高橋謙治、新井祐志、平田哲朗、石田雅史、後藤 毅、  
久保俊一（京都府立医科大学大学院医学研究科 運動器機能再生外科学）  
里見佳子、奥田 司（京都府立医科大学大学院医学研究科 分子生化学）  
秋岡清一、岡本雅彦、吉村了勇  
（京都府立医科大学大学院医学研究科 移植・再生制御外科学）

特発性大腿骨頭壊死症 (Idiopathic osteonecrosis of the femoral head: ION) は大腿骨頭が阻血性壊死に陥り、股関節機能が失われる難治性疾患である。病態についてはいまだ明らかではないが、凝固・線溶系、脂質代謝の異常の関与が報告されている。さらに、生体内酸化ストレスもその病態の一端を担っていると考えられるようになった。そこで、ヒトを対象に酸化ストレス関連物質の遺伝子とION発生との関連を解析することでIONのハイリスク患者を同定できると考え、腎移植後の症例を対象に酸化ストレス関連物質をコードする遺伝子のsingle nucleotide polymorphism (SNP) を解析した。eNOS、quinoid dihydropteridine reductase、6-pyruvoyltetrahydropterin synthase、NADH/NADPH oxidase p22 phox、superoxide dismutase およびheme oxygenase-1のSNPsの解析を行ったが、IONの発生と関連があるSNPを発見することはできなかった。

### 1. 研究目的

臨床で使用されるステロイドは、高い抗炎症効果と免疫抑制作用を有するため、膠原病、喘息、腎炎あるいは臓器移植などに対して頻用される薬剤である。しかし、その反面、多くの合併症も存在する。骨・関節関係の合併症で大きな問題となるのが、特発性大腿骨頭壊死症 (Idiopathic osteonecrosis of the femoral head: ION) である。ION は大腿骨頭が原因不明の病態によって阻血性壊死に陥り、股関節機能が失われて患者の QOL が著しく侵される難治性疾患である。好発年齢は、基礎疾患を反映して青壮年期である。壊死部が圧潰を起こすと疼痛を生じ、壊死範囲が大きいと骨頭温存が困難になる。そのため、実際的な予防法の開発が急務である。

基礎疾患に対して投与されるステロイドの治療効果を損なうことなく、適切に ION の予防を行うためにはハイリスク患者を同定することが極めて重要である。ハイリスク患者を同定するには、個体差を規定している遺伝子多型解析が有効な手法である。当科では ION の発生に関連があると報告されているステロイド代謝、脂質代謝および凝固・線溶系に関連する物質に注目して、遺

伝子多型解析を行ってきた。前回までにステロイドの輸送蛋白質であるP-glycoprotein の ABCB1 遺伝子多型<sup>1</sup>、ApolipoproteinB 遺伝子多型<sup>3</sup>と ION 発生との関連性を報告してきた。近年、動物実験でステロイドによって酸化ストレスが惹起されること、酸化ストレス誘発剤によって骨壊死が発生すること、および抗酸化剤の投与によって ION 抑制効果が認められることが報告された<sup>4,5</sup>。つまり、生体内酸化ストレスが ION の病因の一端を担っていることが判明した。そのため、酸化ストレス関連物質の遺伝子と ION 発生との関連を解析することでIONのハイリスク患者を同定できる可能性があると考えた。

今回の研究では、ステロイド性 ION の危険予測因子を明らかにして予防に役立てていくことを目的として、酸化ストレス関連物質である eNOS、quinoid dihydropteridine reductase (QDPR)、6-pyruvoyltetrahydropterin synthase (PTS)、NADH/NADPH oxidase p22 phox、superoxide dismutase (SOD) およびheme oxygenase-1 (HO-1)のSNPsの解析を行い、腎移植後IONの発生群(症例)と

非発生群(対照)間で比較検討した。

## 2. 研究方法

対象は、当院移植内分泌外科の腎移植症例で、ION発生群 35 例および非発生群 123 例であった。男性が 112 例、女性が 46 例で、移植時年齢は 9～64 歳(平均 34 歳)であった。解析候補は虚血性心疾患と関係があると報告されている遺伝子の SNPs と酸化ストレス消去系において重要と考えられる酵素の遺伝子の SNPs のうち日本人において遺伝子多型の存在が確認されているものとした。今回の研究では以下の SNPs を解析した。eNOS T-786C は心筋梗塞の発症に関係があると報告されている<sup>8</sup>。QDPR と PTS は eNOS の補酵素であり、NO を産生する時には BH<sub>4</sub> が必要であり、BH<sub>4</sub> の濃度が低下すると活性酸素を産生するという調節機構を担っている。JSNP のデータベースから QDPR (rs3733570) と PTS (rs3819331)を選定した。NADH/NADPH oxidase p22 phox C242T は冠動脈疾患と関連があると報告されている<sup>26</sup>。SOD は活性酸素を過酸化水素に変換し、活性酸素を消去する酵素である。JSNP のデータベースから SOD1 (rs2070424, rs699473)と SOD3 (rs2284659)を選定した。HO-1 A-413T は虚血性心疾患と関連があると報告されている<sup>7</sup>。ゲノタイピングは TaqManPCR 法を用いて行った。Fisher's exact probability test または Chi-square for independence test を用いて ION 発生との関連を調査した。

## 3. 研究結果

解析結果を表1に示す。酸化ストレス関連物質である eNOS, QDPR, PTS, NADH/NADPH oxidase p22 phox, SODおよびHO-1のSNPsの解析を行った。腎移植後IONの発生群と非発生群間で比較検討したが、ION発生と関連があるSNPはなかった。

## 4. 考察

NO関連ではeNOSとその補酵素であるQDPR、PTSについて調査したが、ION発生との関連はなかった。Glueckらは健康人を対照としてION発生に関する症例・対照研究を行い、心筋梗塞の発症に関係があると報告されている<sup>8</sup> eNOS T-786C のTTの遺伝子型でオッズ比が上昇したと報告した。Kooらは、健康人を対照としてIONの発症に関する症例・対照研究を行い、eNOS G894TとION発生との間に関連はなかったが27bp repeat polymorphism in intron 4 において4b/bに対して

表 1. SNPs と ION 発生との関連

		症例	対照	P value*
eNOS T-786C	CC	0	0	0.442
	CT	5	22	
	TT	29	101	
QDPR (rs3733570)	CC	2	4	0.256
	TT	25	89	
	CT	8	41	
PTS (rs3819331)	CC	2	4	0.454
	TT	25	89	
	CT	8	41	
NADH/NADPH oxidase p22 phox C242T	TT	1	1	0.375
CT	26	102		
CC	7	20		
SOD1 (rs2070424)	AA	5	30	0.441
	GG	10	34	
	AG	20	59	
SOD 1 (rs699473)	CC	19	60	0.601
	CT	14	48	
	TT	2	15	
SOD 3 (rs2284659)	GG	2	11	0.878
	GT	14	51	
	TT	19	61	
HO-1 A-413T	AA	9	26	0.704
	AT	9	40	
	TT	17	57	

\* Fisher's exact probability test

4a/b でのオッズ比が上昇したと報告した。日本人の腎移植患者において eNOS に関する遺伝子多型と ION の発生との関連を見出すことはできなかった。

虚血によって発生するという点で ION の病態と類似している虚血性心疾患と関連があると報告されている遺伝子多型について ION 発生との関連を調査した。NADH/NADPH oxidase p22 phox C242T<sup>26</sup>と HO-1 A-413T<sup>7</sup>を解析したが、ION 発生との関連は認めなかった。

複数の酸化ストレス関連物質の遺伝子多型と ION 発生との関連について調査したが、ION 発生と関連のある SNP を発見することはできなかった。しかしながら、酸化ストレス関連物質は今回調査した物質以外にも重要な酵素が多数存在する。今後、解析する候補遺伝子を検討することによって新たな知見が得られる可能性があると考えている。



## 5. 結論

eNOS、QDPR、PTS、NADH/NADPH oxidase p22 phox、SODおよびHO-1のSNPsの解析を行ったが、IONの発生と関連があるSNPを発見することはできなかった。

## 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

## 8. 参考文献

1. Asano, T. et al.: ABCB1 C3435T and G2677T/A polymorphism decreased the risk for steroid-induced osteonecrosis of the femoral head after kidney transplantation. *Pharmacogenetics*, 13(11): 675-82, 2003.
2. Azumi, H.; Inoue, N.; Takeshita, S.; Rikitake, Y.; Kawashima, S.; Hayashi, Y.; Itoh, H.; and Yokoyama, M.: Expression of NADH/NADPH oxidase p22phox in human coronary arteries. *Circulation*, 100(14): 1494-8, 1999.
3. Hirata, T. et al.: ApoB C7623T polymorphism predicts risk for steroid-induced osteonecrosis of the femoral head after renal transplantation. *J Orthop Sci*, 12(3): 199-206, 2007.
4. Ichiseki, T.; Kaneuji, A.; Kitamura, K.; and Matsumoto, T.: Does oxidative stress play a role in steroid-induced osteonecrosis models? *Med Hypotheses*, 66(5): 1048, 2006.
5. Ichiseki, T., and Matsumoto, T.: Oxidative stress may underlie the sex differences seen in steroid-induced osteonecrosis models. *Med Hypotheses*, 66(6): 1256, 2006.
6. Inoue, N.; Kawashima, S.; Kanazawa, K.;

Yamada, S.; Akita, H.; and Yokoyama, M.: Polymorphism of the NADH/NADPH oxidase p22 phox gene in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 97(2): 135-7, 1998.

7. Ono, K.; Goto, Y.; Takagi, S.; Baba, S.; Tago, N.; Nonogi, H.; and Iwai, N.: A promoter variant of the heme oxygenase-1 gene may reduce the incidence of ischemic heart disease in Japanese. *Atherosclerosis*, 173(2): 315-9, 2004.
8. Yoshimura, M. et al.: A T-786->C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene and coronary arterial vasomotility. *Am J Cardiol*, 85(6): 710-4, 2000.

# ステロイド誘発特発性大腿骨頭壊死症の発生素因についての研究

## - CYP3A 酵素活性とステロイド投与量変化による骨壊死発生との関連 -

徳原善雄、岩切健太郎、金城養典、政田俊明、岩城啓好、高岡邦夫

(大阪市立大学整形外科)

小田 裕

(大阪市立大学 麻酔科)

家兔の肝臓でのステロイド(glucocorticoid)代謝の主要酵素である、CYP3Aの活性と投与ステロイド量と骨壊死発生との関係を明らかにするため、CYP3Aの抑制(Itraconazole)または誘導(Phenobarbital)効果を有する薬剤を家兔に投与した後、異なる量のステロイド剤を投与し骨壊死発生の頻度について検索した。その結果、CYP3A活性抑制群はCYP3A活性誘導群と比較すると、より少ないステロイド投与量にも関わらず、骨壊死発生の頻度は有意に増加していた。これらの結果より、ステロイド代謝酵素活性と骨壊死の発現に関連性があるだけでなく、CYP3A活性の低下がステロイドによる骨壊死発生の主要な危険因子であることが示唆された。この実験結果からヒトでのステロイドに関連した特発性大腿骨頭壊死(以下ION)発生の危険因子としてステロイド代謝能の低下の可能性があると窺われた。

### 1. 研究目的

IONに関する従来の研究結果から、ステロイド剤使用によりIONが誘発されることは知られている。このION発生素因として、様々なメカニズムが推測されており、中でも、我々はこれまでウサギ骨壊死モデルを用いてステロイド代謝酵素である肝CYP3A活性と骨壊死発生との負の相関について報告してきた(図1)<sup>1)</sup>。

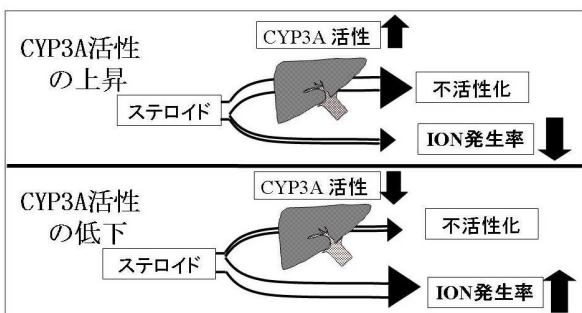


図1. CYP3A活性と骨壊死発生との負の相関

臨床においてもION患者のCYP3A活性は健常人に比して低いことを明らかにした<sup>2)</sup>。しかしステロイド投与量の変化がどの程度CYP3A活性と骨壊死発生頻度へ関与するかについては不明であり、本研究ではこの点

について検索した。

もしCYP3A活性とステロイド投与量と骨壊死発生の関連性が明らかに出来れば、ステロイド剤投与にあたって同酵素活性の測定によって個々の患者に投与すべきステロイド剤の至適量を調整することで、期待される薬効を損なうことなくIONを予防できる可能性がある。すなわち、本研究は究極的にはステロイド剤使用の適正化によってIONを予防することである。

### 2. 研究方法

#### A. 対象

日本白色家兔メス(体重3.5~4.5Kg)を用いてステロイド剤を投与して骨壊死動物モデルとした<sup>3)</sup>。このモデル動物を1. Control群(group C)、2. CYP3A活性抑制群(group I)、3. CYP3A活性誘導群(group P)の3群に分け、さらにそれらのgroupをステロイド投与量に応じて、それぞれ3つに分け合計9つのsubgroupを作成した(group C5:ステロイド投与5mg/Kg:n=20, group C10:ステロイド投与10mg/Kg:n=22, group C20:ステロイド投与20mg/Kg:n=30), (group I5:ステロイド投与5mg/Kg:n=15, group I10:ステロイド投与10mg/Kg:

n=15, group I20:ステロイド投与 20mg/Kg: n=15), (group P5:ステロイド投与 5mg/Kg: n=15, group P10:ステロイド投与 10mg/Kg: n=16, group P20:ステロイド投与 20mg/Kg: n=15)。ステロイド剤としてDepoMedrolを殿筋内に1回筋注投与した。CYP3A 活性抑制群にはItraconazole 100mg/Kgを3週間経口投与し、その後DepoMedrolを投与した。CYP3A 活性誘導群はPhenobarbital 25 mg/kgを3週間皮下注射により投与を行い、その後DepoMedrolを投与した。各群とも3週間経過観察した後、犠牲死させ両大腿骨のH-E標本作成し、その病理組織学的観察を行い、骨壊死の有無を検索した(図2)。組織評価法は山本らの骨壊死の定義<sup>3)</sup>に従い、評価を行った。骨壊死の頻度は上記の壊死の定義を満たすものを骨壊死と判定し頻度を検討した。

またそれぞれのCYP3A活性抑制剤やCYP3A活性誘導剤を投与前と投与後3週目にMidazolam clearance testを行いCYP3A活性を測定し<sup>4)</sup>各薬剤投与前後のCYP3Aの値を比較しCYP3A活性の高低を確認した。

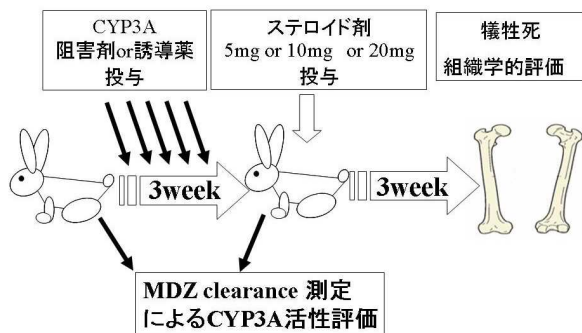


図2 モデル作成

### 3. 研究結果

1) Midazolam clearance testによるCYP3A活性測定  
Midazolam clearance testの結果を図3に示す(group C: n=42, group I: n=30, group P: n=31)。誘導薬投与後では有意にCYP3A活性は上昇しており、阻害薬投与後では有意にCYP3A活性は減少していた。また薬剤投与前では各群間で差を認めず、投与後では各群間で有意差を認めた。

#### 2) 骨壊死発生頻度

図4に結果をしめす。骨壊死発生の頻度はgroup C group Iにおいてdose-dependentlyに増加していた。壊死の発生頻度はgroup I, group C, group Pの順で高くなり、group I10ではgroup P20と比し、ステロイド量が半量にも関わらず有意に壊死発生が増加していた。

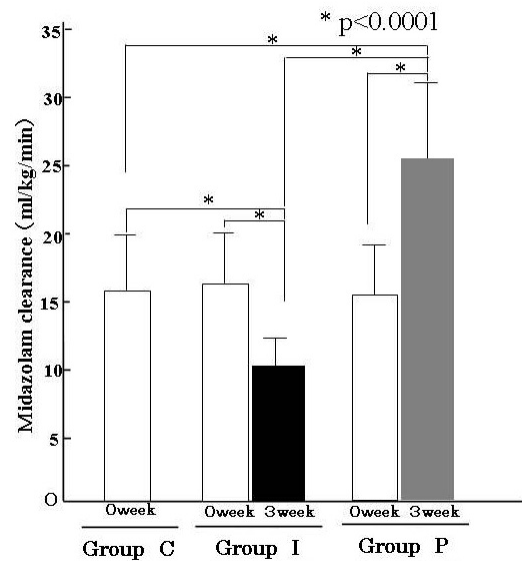


図3. CYP3A酵素活性の変化

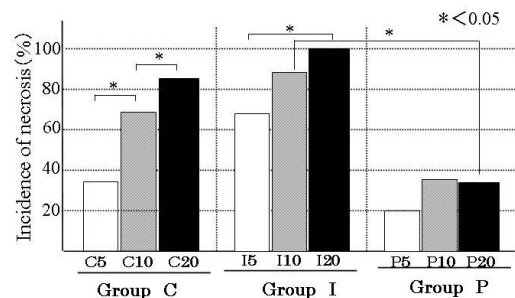


図4. 壊死発生頻度

### 4. 考察

ステロイド剤とIONとの関連に関する研究は古くから国内外を問わず臨床研究、基礎研究ともに進められており、その因果関係が指摘されている。しかしIONの発生機序については明らかにされておらず、ステロイド剤がどのような機序で骨壊死に関係するのかは定説がない。いずれにしても、ステロイドの効果が増えれば骨壊死のリスクが高くなるのが推察できる。長期にステロイド剤を投与したときのION発生は総投与量よりも、一日投与量に関係があることから、過剰なステロイド剤の効果がION発生に関与していることが窺われる。従来からステロイド剤に対する反応性の個体差は、薬物代謝酵素、薬物受容体などの活性の個体差が関与していると考えられてきた。今回我々は家兔における、ステロイド代謝酵素であるCYP3Aの活性変動とステロイド投与量に着目して骨壊死発生との関連性について検索した。

CYP3A活性抑制群とControl群では骨壊死発生の頻度はdose-dependentlyに増加したことから、骨壊死の発生は、過去の臨床での報告に違わずステロイドの一

回投与量に依存することが確認された。しかし CYP3A 活性誘導群では投与ステロイドを 5mg/Kg に減量しても、骨壊死発生を無くすことは出来なかった。この結果からは様々なことが推測されるが、家兔にとってステロイド剤の 5mg/Kg 投与は量が多すぎ、CYP3A 活性は上昇したのにも関わらず、骨壊死を発生した家兔が出現したと推測するのが妥当であろう。

CYP3A 活性抑制群は CYP3A 活性誘導群にくらべ骨壊死の発生率が高く、ステロイド投与量が半分にも関わらず、有意に骨壊死の発生率が高くなっていたことから CYP3A 活性の低下が骨壊死発生の危険因子である可能性を強く示唆している。

従来の動物実験で抗高脂血症剤の投与により家兔ステロイド性骨壊死の発生頻度が低下するとの報告があるが、<sup>5)</sup>抗高脂血症剤が CYP3A 活性の誘導に作用している可能性もあるために同様の家兔ステロイド骨壊死モデルを使用して検討をしている<sup>5)</sup>。

この今後 CYP3A 活性低下がステロイドによる ION 発生の主要な危険因子であることが明らかになれば、個々の患者の CYP3A 活性を測定することによって、ステロイド剤投与が必要な患者へのステロイド剤の投与量を調整することで、副作用の発現を低減しながらステロイド剤に期待する治療効果も損なうことなく ION の発生を防止する治療法、いわゆる tailor-made medicine に準じた治療を行うことが可能かもしれない。しかし CYP3A 活性の測定は必ずしも容易ではなく、その開発は今後の課題であり、その開発のために現在さらなる研究、検討を行っている。

## 5. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

## 6. 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

## 7. 参考文献

- 1) Kaneshiro Y, Oda Y, Iwakiri K, Masada T, Iwaki H, Hirota Y, Kondo K, Takaoka K. 2006. Low hepatic cytochrome P450 3A activity is a risk for corticosteroid-induced osteonecrosis. Clin Pharmacol Ther 80:396-402. quence of human apolipoprotein(a) is homologous to plasminogen. Nature 1987; 330: 132-7.
- 2) Masada T, Iwakiri K, Oda Y, Kaneshiro Y, Iwaki H, Ohashi Y, Takaoka K. Inverse correlation of hepatic cytochrome P450 3A activity to the risk for glucocorticoid-induced osteonecrosis in a rabbit model. J Orthop Res in press.
- 3) Yamamoto T, Irisa T, Sugioka Y, Sueishi K. 1997. Effects of pulse methylprednisolone on bone and marrow tissues: corticosteroid-induced osteonecrosis in rabbits. Arthritis Rheum 40:2055-64.
- 4) Thummel KE, Shen DD, Podoll TD, Kunze KL, Trager WF, Hartwell PS, et al. 1994. Use of midazolam as a human cytochrome P450 3A probe: I. In vitro-in vivo correlations in liver transplant patients. J Pharmacol Exp Ther 271:549-56.
- 5) 岩切健太郎 金城養典 政田俊明 岩城啓好 小林章郎 高岡邦夫:高脂血症治療薬はステロイド性骨頭壊死の発生を予防する、第33回日本股関節学会(2006.10.27) 品川