

CYP3A 活性の個体間相違を利用したステロイド性 大腿骨頭壊死症の予防法の開発

大阪市立大学大学院医学研究科 整形外科 岩切 健太郎 高岡 邦夫

抄 録

骨壊死発生と高脂血症、またステロイド代謝の主要酵素であるCYP3Aの活性との関与度を明らかにする為に、CYP3A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）、CYP3A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CYP3A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）を家兎に予防投与した後、ステロイド剤を大量投与し、その後さらに各薬剤を継続投与し、骨壊死の発生頻度について検索した。

その結果、スタチン系高脂血症治療薬投与2群はControl群とプロブコール群に比し骨壊死頻度は低下した。

また、CYP3A活性誘導作用の無いプラバスタチン群に比し、CYP3A誘導作用を有するシンバスタチン群では骨壊死頻度が低下した。

これらの結果より、骨壊死の発生とスタチンの特異的薬理作用に関連性があること、また骨壊死発生とステロイド代謝酵素活性に更なる関連性があることが示唆された。

この事実より、ヒトでのステロイド誘発性特異性大腿骨頭壊死症（以下ION）の発生予防因子としてスタチンの薬理効果及びステロイド代謝能亢進の可能性があることが示唆された。

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、ステロイド剤による高脂血症と骨壊死との関連性が指摘されており、スタチン系薬剤（高脂血症治療薬）が骨壊死発生を予防するとの報告¹⁾も見られている。

また、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剤代謝酵素である肝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²⁾。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³⁾。

しかし高脂血症、CYP3A活性それぞれの骨壊死発生への関与度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、予防措置を開発することを目的とする。

方 法

日本白色家兎メス(体重3.1~4.2kg)を用いてステロイド剤を投与して骨壊死モデルとした⁴⁾。

このモデル動物を1. Control群（ステロイド剤単独投与群 n=30）、2. 非スタチン系でCYP3Aに影響を及ぼさないとされている高脂血症治療薬（プロブコール n=15）投与群、3. スタチン系でCYP3Aに影響を及ぼさないとされている高脂血症治療薬（プラバスタチン n=15）投与群、4. スタチン系でCYP3A誘導作用を持つとされている高脂血症治療薬（シンバスタチン n=15）投与群の4群に分けた。

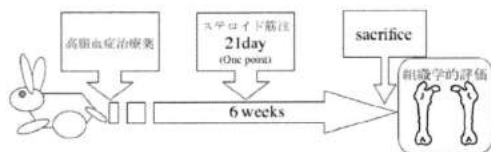


図1.モデル作製

Control群にはステロイド剤としてMethylprednisolone 20mg/kgを右殿筋内に一回筋注射与した。

その他、高脂血症治療薬投与3群には、それぞれの薬剤を3週間毎日、経口及び静注射与し、3週目にMethylprednisolone 20mg/kgを右殿筋内に一回筋注射与し、さらにそれぞれの薬剤を3週間継続投与した。

各群ともステロイド筋注射与後3週間経過観察した後、犠牲死させ両大腿骨のH-E標本を作製し、その病理組織学的観察を行い、骨壊死の発生頻度を評価した。

組織評価法は山本らの骨壊死の定義⁴⁾に従い、骨壊死は骨髄の造血細胞壊死および脂肪細胞壊死を伴うもの、骨梁の骨細胞がempty lacunaeまたはpycnotic nuclei of osteocyteを呈するものとした。

また、それぞれの群において、経時的に血液検査（薬剤投与開始後0.7.14.21.24.28.31.35.42日目）を行い脂質系因子（Triglyceride, T-cholesterol, HDL, LDL, Free Fatty Acid）の測定を行い、高脂血症治療薬投与群3群でのControl群に対する脂質系因子の変動を比較した。

また、それぞれの高脂血症治療薬投与前と投与後3週目にMidazolam clearance testを行い、CYP3A活性を測定し⁵⁾、各薬剤投与前後のCYP3Aの値を比較し、CYP3Aの誘導の有無を確認した。

結果

脂質系因子の推移：

TG, T-cho, LDLにおいて、いずれもステロイド投与後3週目、すなわち42日目にはcontrol群に比し、3群共に有意差を持って低下してい

た。また、低下した3群間には有意差を認めなかった。

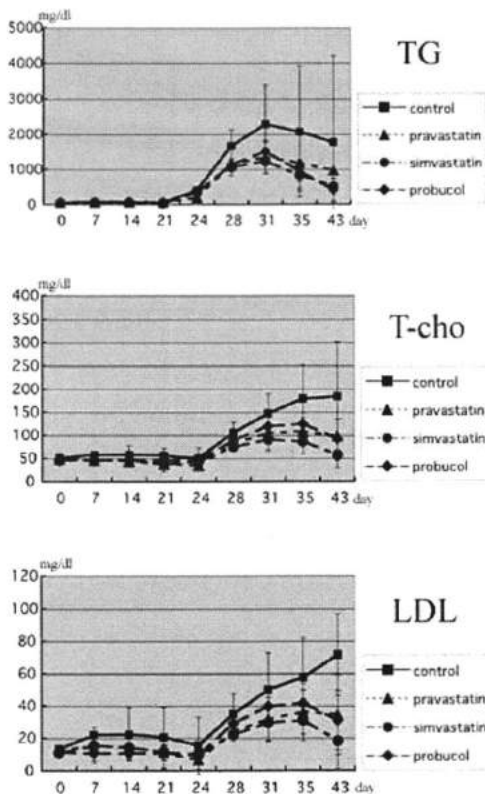


図2.脂質系因子の推移

MDZ clearance testによるCYP3A 酵素活性測定：

各薬剤投与前後のCYP3A 酵素活性の比は、CYP3Aを誘導するシンバスタチン群でのみ1.4倍と有意に上昇していた。(p<0.005)

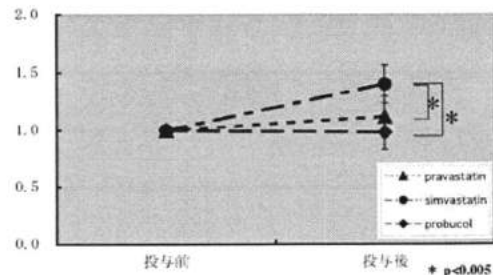


図3.高脂血症治療薬によるCYP3A 酵素活性の変化

骨壊死発生率：

Control群は83%(25/30)、プロブコール群67%(10/15)、プラバスタチン群47%(7/15)、シンバスタチン群13%(2/15)であった。Control群とプラバスタチン群との間、シンバスタチン群との間で有意差 ($P < 0.05$) を認めた。また、CYP3A活性を誘導するシンバスタチン群は、他の高脂血症治療薬投与群との間で、有意な骨壊死発生率の減少を認めた。

	ION		計	壊死率
	(+)	(-)		
Control群	25	5	30	83%
Probuco 投与群	10	5	15	67%
Pravastatin 投与群	7	8	15	47%
Simvastatin 投与群	2	13	15	13%

表1. 4群での壊死発生頻度

考察

ステロイド剤とIONとの関連に関する研究は数多くあり、その因果関係が指摘されている。しかし未だIONの発生機序については明らかではなく、一般的には骨の微小循環に阻血性壊死を起こすことが原因とされている。

しかし、ステロイド剤による微小骨循環に与える障害の発生機序については一定の見解は無く、ステロイド剤による高脂血症が引き起こす脂肪塞栓や血液凝固能亢進、骨髄内脂肪増生による骨髄内圧上昇による微小循環障害、血管内皮細胞障害や内皮依存性血管運動障害などが提唱されてきた。

このようなステロイド剤の効果が過剰となることで骨壊死のリスクは高くなることは推察され、逆にこのステロイド剤による高脂血症を予防することで骨壊死発生が減少するとの報告もある。

しかし、多量のステロイド投与をしたとしてもそれらの患者すべてにIONが発生するわけではないことも明らかとなっている。これは、ION発生素因にはステロイド剤に対する反応性

にかなりの個体差があることが窺われる。

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、薬物輸送蛋白などの活性の個人差の関与が考えられてきた。

今回我々は、家兎において、高脂血症治療薬を予防的に投与することにより、ステロイド代謝酵素であるCYP3A活性変動と脂質系因子の変動を調査し、骨壊死発生頻度へのそれぞれの関連性に着目した。

家兎において高脂血症治療薬投与により、脂質系因子であるTG, T-cho, LDL, Free Fatty Acidでは、ステロイド投与後3週目の値はcontrol群に比し有意に抑制されていること、またそれぞれの薬剤による抑制の程度に有意差が無いことを確認した。

また、家兎において高脂血症治療薬投与とCYP3A活性の定量的関係についての報告は少なかつたため、実際にそれぞれの高脂血症治療薬投与前後のCYP3A酵素活性を定量化し、シンバスタチンのみで酵素活性が誘導されていることを確認した。

非スタチン系高脂血症治療薬をステロイド投与前に予防投与することにより骨壊死発生頻度はControl群に比し減少する傾向にあった。これはCYP3A活性に関わりなく高脂血症予防による効果の関与と考察される。

また、Control群に比し、スタチン系高脂血症治療薬投与群で骨壊死発生頻度は有意に減少した。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示唆された。スタチンの特異的薬理作用には、抗炎症作用、抗血小板作用、血管内皮機能改善作用等のPleiotrophic effect(多面的効果)があるとされている。

さらに、CYP3Aを誘導しない高脂血症治療薬のプラバスタチン投与群に比し、CYP3Aを誘導する高脂血症治療薬のシンバスタチン投与群で骨壊死発生は減少した。よって、CYP3A活性誘導が壊死発生抑制に関与することも示唆された。

結 論

IONの発生は、スタチンの予防投与によりコントロール群に比し有意に抑制された。さらに、CYP3A活性誘導作用のあるシンバスタチン群が、CYP3A活性誘導作用のないプラバスタチン群に比しION発生を抑制した。これは、各個体におけるCYP3A活性に適切なステロイド量を投与(テイラーメディスン化)することでION発生を抑制することができる可能性を示唆している。

謝 辞

本研究は平成19年度財団法人日本股関節研究振興財団の研究助成により行いました。財団法人日本股関節研究振興財団に深謝いたします。

of midazolam as a human cytochrome P450 3A probe. In vitro-in vivo correlations in liver transplant patients. *J Pharmacol Exp Ther.* 271: 549-56. 1994.

参考文献

- 1) Qui Q, Wang GJ, Su CC, Balian G: Lovastatin prevents steroid induced adipogenesis and osteonecrosis. *Clin Orthop* 344: 8-19, 1997
- 2) Masada T, Iwakiri K, Oda Y, Kaneshiro Y, Iwaki H, Ohashi H, al. Increased hepatic cytochrome P4503A activity decreases the of developing steroid-induced osteonecrosis in a rabbit . *J Orthop Res* 2008;26:9175.
- 3) Kaneshiro Y, Oda Y, Iwakiri K, Takaoka K: Low Hepatic cytochrome P450 3A activity is a risk for corticosteroid-induced osteonecrosis. *Clin Pharmacol Ther.* 80: 396-402, 2006.
- 4) Yamamoto T, Iriya T, Sugioka Y, Sueishi K: Effect of pulse methylprednisolone on bone and marrow tissue : corticosteroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Arthritis Rheum.* 40(11): 2055-64. 1997.
- 5) KE Thummel, DD Shen, TD Kunze, WF Trager, PS Hartwell, VA Raisys, CL Marsh, JP McVicar, DM Barr, et al. Use