

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 渡邊 俊之

学位論文題名

抗リン脂質抗体陽性全身性エリテマトーデス患者に対するスタチン製剤の
血栓症抑制効果とその機序の解明

(Preventive effects of statin on developing thrombosis in lupus patients with
antiphospholipid antibodies and its mechanism)

【背景】抗リン脂質抗体症候群(APS)とは、抗リン脂質抗体(aPL)に関連した自己免疫性血栓症および妊娠合併症と定義される。脳梗塞、肺血栓塞栓症など動・静脈に血栓症を来し、約半数が全身性エリテマトーデス(SLE)に合併する。代表的な aPL として抗カルジオリピン抗体(aCL)、 β 2-グリコプロテイン I 依存性抗カルジオリピン抗体(aCL/ β 2GPI)、抗 β 2GPI 抗体(a β 2GPI)があり、これらは同義とされる。APS の病態は病源性自己抗体である aPL が血管内皮細胞や単球など向血栓細胞を活性化させることで形成される。APS の治療は抗血栓療法に二次予防が中心である。しかし血栓症の再発率や出血合併症の頻度は高い。また無症候性 aPL 陽性者においては、血栓症の一次予防は確立されていない。近年、脂質異常症の治療薬であるスタチン製剤は動脈血栓症の一次・二次予防、静脈血栓症の一次予防に有効であることが示されている。しかしながら APS 患者及び aPL 陽性者に対するスタチン製剤の血栓症抑制効果については立証されていない。

第一部

【目的】aPL 陽性 SLE 患者におけるスタチン製剤の血栓症一次予防効果を明らかにする。

【方法】1997 年 4 月から 2014 年 2 月の間に当科で初発の SLE と診断され、かつ血栓症の既往および抗血栓薬による治療歴がない患者を対象とし、血栓症の発症および血栓症発症リスク、スタチン製剤の有効性について後ろ向きに解析した。血栓症の定義は、有症状かつ画像検査もしくは組織学的検査のいずれかで血栓を同定できたものとした。

【結果】152 人(女性 138 人、男性 14 人)が本研究に登録され、78 人(女性 70 人、男性 8 人)が aPL 陽性で、74 人(女性 68 人、男性 6 人)が aPL 陰性であった。aPL 陽性群の SLE 発症時年齢中央値は 30 歳(四分位(IQR) 21-41 歳)、観察期間中央値は 69 ヶ月(IQR 27-118 ヶ月)であった。aPL 陰性群の SLE 発症時年齢中央値は 33 歳(IQR 24-46 歳)、観察期間中央値は 46 ヶ月(IQR 15-110 ヶ月)であった。aPL 陽性群において、SLE 発症後中央値 6 ヶ月(IQR 1.5-63 ヶ月)で 15 人(19%)が血栓症を発症し、発症率は 2.99/100 人年であった。aPL 陰性群においては、SLE 発症後中央値 2 ヶ月(IQR 0.5-10 ヶ月)で 7 人(10%)が血栓症を発症し、発症率は 1.21/100 人年であった。血栓症の内訳は、aPL 陽性群で脳梗塞が 6 人、深部静脈血栓症(DVT)が 4 人、肺血栓塞栓症(PE)が 3 人、DVT+PE が 2 人であり、aPL 陰性群で脳梗塞が 4 人、腸管梗塞が 1 人、DVT が 1 人、PE が 1 人であった。Cox 比例ハザードモデルを用いた多変量解析で、aPL 陽性群では高齢発症、IgG-aCL 陽性が血栓症発症のリスク因子として同定された。またスタチン製剤の使用は血栓症発症に抑制的であった。一方、aPL 陰性群においては解析した因子のいずれも血栓症と関連は見られなかった。

【結語】aPL 陽性 SLE 患者において高齢発症、IgG-aCL 陽性は血栓症発症のリスクであ

り、発症早期のスタチン製剤投与は血栓症一次予防に有効であった。

第二部

第一部でスタチン製剤が aPL 陽性 SLE 患者の血栓症発症を抑制する効果を持つことが示されたが、aPL による血栓傾向に対してスタチン製剤がどのように作用するかは不明である。そこで第二部では *in vitro* で β 2GPI/human leukocyte antigen (HLA) class II 複合体に対するスタチン製剤の影響を検討し、*in vivo* の解析として APS モデルラットにスタチン製剤の投与を行い、血栓症抑制効果を検討した。

実験 1 スタチン製剤の HLA classII 発現低下を介した病原性自己抗原提示抑制

【目的】 β 2GPI/HLA classII 複合体を発現した単球や血管内皮細胞に対するスタチン製剤の作用を検討する。

【方法】不死化臍帯静脈血管内皮細胞(HUEhT-1)とヒト急性単球性白血病細胞(THP-1)にエレクトロポレーション法で HLA-DRA*01:01(DRA)、HLA-DRB1*07:01(DRB7)、 β 2GPI の遺伝子を導入した。DRB7 のコントロールには HLA-DRB1*08:01(DRB8)を用いた。遺伝子導入後にフルバスタチンを 0.01 μ M、0.1 μ M、1 μ M、10 μ M の濃度で添加した。またフルバスタチンの拮抗剤であるメバロン酸を 100 μ M 加え、HLA-DR と β 2GPI の細胞表面への発現およびヒトモノクローナル IgM 型 a β 2GPI(EY2C9)の β 2GPI/HLA classII への結合をフローサイトメトリーで評価した。

【結果】HUEhT-1 と THP-1 において、 β 2GPI のみ遺伝子導入した場合には、 β 2GPI は細胞表面に検出されなかった。 β 2GPI は HLA-DR と共発現した細胞表面に検出され、DRB7 では β 2GPI の細胞表面への発現及び EY2C9 の細胞への結合が亢進していた。HUEhT-1 と THP-1 において、フルバスタチンの濃度依存性に HLA-DR と β 2GPI の発現および EY2C9 の結合が低下し、その作用はメバロン酸により拮抗された。

実験 2 APS モデルラットに対するスタチン製剤の血栓症抑制効果

【目的】APS モデルラットである env-pX ラットにフルバスタチンを投与し、血栓症の抑制効果と免疫学的変化について検討する。

【方法】8 週齢、オスの env-pX ラットにフルバスタチン 4 μ g/ml 溶液を 50ml、30 日間連日経口摂取させた。コントロール群は 5%ブドウ糖液 50ml を同様に 30 日間連日経口摂取させた。フルバスタチンの投与前、投与 10 日後、投与 20 日後、投与 30 日後に採血を行い、IgM-aCL を測定した。フルバスタチンを 30 日間投与終了後に屠殺し、大脳+小脳、唾液腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、脾臓+膵臓、腎臓、小腸+腸間膜、精巣(右)、精巣(左)、皮膚+皮下組織(骨格筋)、足関節(2 切片)の計 14 ヶ所の組織を採取し、Hematoxilin-Eosin 染色を行い、血栓症の総数を測定した。

【結果】フルバスタチン投与群と非投与群の平均血栓数はそれぞれ 1 ± 0 、 5.3 ± 1.8 個であり ($p = 0.059$)、血栓症を抑制する傾向が認められた。フルバスタチン投与群と非投与群の両群とも、IgM-aCL の力価は経時的に上昇したが、フルバスタチン投与群において、IgM-aCL の産生は抑制された。

【結語】フルバスタチンは *in vitro* において、血管内皮細胞および単球系細胞上に発現した β 2GPI/HLA classII 複合体と a β 2GPI との結合を阻害した。また env-pX ラットを用いた *in vivo* の検討においては、フルバスタチンは aCL の産生を抑制し、血栓症の発症を抑制する傾向が見られた。