

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590778

研究課題名（和文） 脳梗塞の進行増悪における炎症性バイオマーカーの変化とスタチンの効果に関する研究

研究課題名（英文） Effects of early statin treatment on circulating inflammatory biomarkers and progressing stroke.

研究代表者

長谷川 泰弘 (HASEGAWA YASUHIRO)

聖マリアンナ医科大学・医学部・教授

研究者番号：40231518

研究成果の概要（和文）：発症48時間以内の脳梗塞患者146例を、入院直後より atorvastatin 1日10mg投与を開始するStatin群と、入院後2週間はスタチンの投与を行わないNon-Statin群に分け、経時的にIL-6、IL-10、IL-18、MMP-2、MMP-9、高感度CRPを測定した。Statin群の血中IL-6濃度はNon-statin群に比し有意に低下し（ $p=0.047$ ）、入院後14日以内の増悪進行はStatin群で有意に少なかった（Non-Statin群、20.8%、Statin群8.0%、 $p=0.035$ ）。脳梗塞発症48時間以内のスタチンの投与は血中IL-6値低下させ、急性期の進行増悪を抑える可能性がある。

研究成果の概要（英文）：A total of 146 ischemic stroke patients were enrolled and were divided into Statin Group (atorvastatin, 10 mg daily, initiated within 48 hrs after the onset) and Non-Statin Group (statin was not administered for 2 weeks). Early statin treatment significantly lowered the serum levels of IL-6 ($p=0.047$) and frequency of neurological deterioration during 14 days after admission ($p=0.035$). Statin treatment within 48 hrs decreases IL-6 elevation and may protect against early neurological deterioration.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般（含心身医学）

キーワード：脳梗塞、スタチン、インターロイキン、進行性脳卒中、

1. 研究開始当初の背景

脳卒中は、わが国の3大死因の一つであるばかりでなく、「ねたきり」や介護が必要となる原因の第一位である。しかもその患者数、

とりわけ虚血性脳血管障害の有病者数は、人口の高齢化とともに今後急速に増加すると予測されており、脳卒中の対策は喫緊の課題である。脳梗塞治療の最大の目標は、脳虚血

によりもたらされる細胞死の阻止であるが、最も高いエビデンスが示されている超急性期血栓溶解療法（t-PA 静注）ですら、その適応となるのは脳卒中全体の7%以下にすぎない。

脳梗塞の10-20%は、その急性期に局所神経症候の進行増悪をきたし進行性脳卒中（progressing stroke）と呼ばれ、脳卒中患者の転帰悪化の最大の要因である。進行性脳卒中は、病院到着後に観察されることから治療の重要なターゲットと考えられるが、国際的にも国内的にも進行性脳卒中のコンセンサスを得た定義（診断基準）は存在せず、その病態はもちろん、増悪時の治療法も確立されていない。

これまで虚血性脳血管障害は、血栓止血学的機序に起因する局所脳血流低下で説明されてきた。進行性脳卒中に対しても強力な抗血栓療法が行われることが多いが、麻痺の進行を停止させることができない症例が多い。近年、脳虚血発症機序に炎症や免疫学的機序が深く関与していることが知られるようになり、炎症性サイトカインや接着分子、不安定プラークや血液脳関門破壊における MMPs の変化が超急性期の患者末梢血中でとらえうることが小規模臨床試験で報告され、進行性脳卒中の病態解明、治療法確立に新たな展開が期待される様になった。

脂質代謝異常治療薬である 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase（スタチン）は抗炎症作用、免疫系への作用、抗凝固作用など LDL 低下作用以外にも多面的効果を有し、炎症性サイトカインや Matrix metalloproteinase（MMPs）、NOS などを介して動脈硬化性疾患の予後を改善する可能性が示唆されている。また、冠動脈疾患急性期におけるスタチン投与開始により、脳梗塞発症を低下させたとする研究成果も報告されており、脳梗塞患者を対象とした proof of concept study、それに引き続く efficacy study が必要である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、発症 48 時間以内のスタチン投与により、脳梗塞急性期の進行増悪が抑えられるか否か、またその効果はスタチンの抗炎症作用を介するものであるか否かを、ランダム化比較試験により明らかにすることにある。また得られたデータをもとに、急性期進行増悪例の治療法としてのスタチンの急性期投与に関する efficacy study のデザインを考察する。

3. 研究の方法

【デザイン】前向きランダム化比較試験 (UMIN ID: UMIN000006296)

【研究期間】3年計画

【対象】発症 48 時間以内に入院した虚血性脳血管障害患者（初発、再発、重症度、スタチンの服用の有無を問わない）

【選択基準】下記のすべてを満たすもの。①発症（または入院の契機となった最終発作）から 48 時間以内の患者、②入院患者、③同意取得時の年齢が 20 歳以上の患者

【除外基準】① 特殊な原因による脳梗塞患者、②出血性素因、血液凝固異常あるいは出血性疾患合併患者、③血小板減少症を有する患者（ <10 万/mm³）、④肝機能障害患者、⑤腎機能障害を有する患者（Creat >2.0 mg/dl）、⑥治療を要する悪性腫瘍を有する患者、⑦他の臨床試験に参加している患者、⑧担当医師の判断により、当試験への参加が不適切と考えられる患者

【方法】

(1) ランダム化

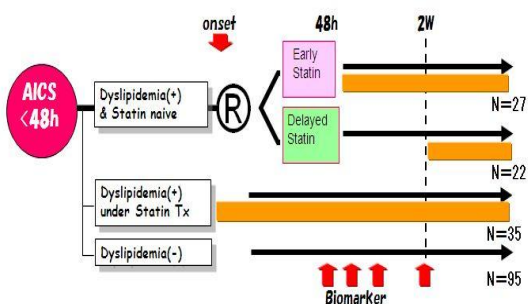


Figure 1. Randomization

AICS: Acute ischemic cerebrovascular syndrome

① 3日以内にスタチン服用歴のある患者：

急性期のスタチン中断は、脳卒中症状の増悪を招く可能性がすでに報告されているので、本患者においては使用されているスタチンの種類にかかわらず、発症 48h 以内にスタチン（アトルバスタチン 10mg）を継続投与する（Continuation of Statin Group, CS group）。

② 3日以内にスタチン服用のない患者：

入院時脂質検査により脂質異常症のある群について、スタチン 48 時間以内開始群（Early Tx group, E 群）と 2W 後から開始する群（Delayed Tx group, D 群）にランダム化する。スタチンは、アトルバスタチン 10mg を用いる。

入院時脂質検査により脂質異常症のなかったものでは、スタチン非投与として通常の治療を行う（non-hyperlipidemic group, N 群）。

(2) 臨床評価：

*入院日：CT、CT angio（またはMRI、MR angio）を施行。炎症性サイトカインの測定

用採血を行い、血清を-80度で凍結保存する。

*14日目まで:NIHSS2点以上の増悪があったものは、進行増悪とする。NIHSSが48時間以上にわたって変化ないものは、安定型脳卒中とし、それ以降の増悪は再発と定義する。

*退院時:入院日数、最終診断、主幹動脈閉塞の有無、ADL、入院中の再発、増悪の有無、主幹動脈閉塞の有無。

*3ヶ月目: modified Rankin scale (mRS) を評価する。

(3) 臨床病型分類

TOAST 分類を用いて脳梗塞の臨床亜病型分類を行う。

(4) バイオマーカーの測定

高感度 CRP、plasma IL-6, IL-10, TNF- α 、MMP-2, 9, 18 を ELISA 法で測定する。

(5) 主要エンドポイント

- 脳卒中再発 (TIA) を含む
- 早期進行 (progressing stroke) の発生
- 3ヶ月後の転帰 (mRS <2)

*本研究では、急性期の進行増悪、3ヶ月目の転帰は PROBE 法により行い、バイオマーカーの測定も2週間以降に行うことにより、バイアスを避ける。

4. 研究成果

(1) スタチンの早期投与が、血中バイオマーカーに与える影響

①CS+E 群と D+N 群の比較

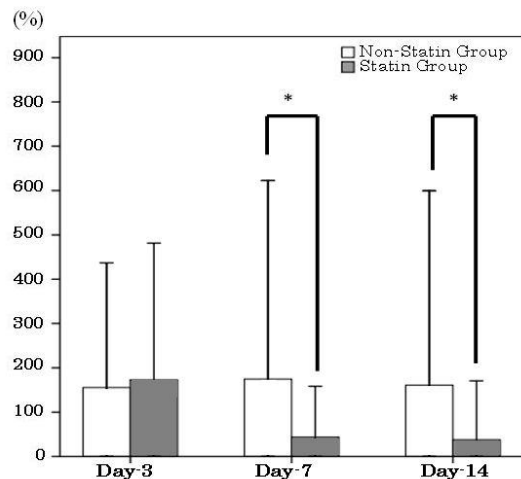


Figure 2. plasma IL-6 の変化

Baseline レベルからの各 biomarker の Day-3, Day7, Day14 の変化を2群間で比較したところ、IL-6 値は早期 Statin 開始 (CS+E 群) により有意に非早期投与 (D+N 群) より低値を示した (2-way repeated-measures ANOVA, group X time factor、 $p = 0.047$)。

②E 群対 D 群の比較

脂質異常症を有する Statin naïve な例のランダム化に限ると、スタチンの IL-6 低下効果は第7病日に univariate 検定において確認されたが ($p = 0.013$, Figure 3)、2-way repeated measures ANOVA による group x time interaction では有意な差は見られなかった。他のバイオマーカーには有意な差は見られなかった。

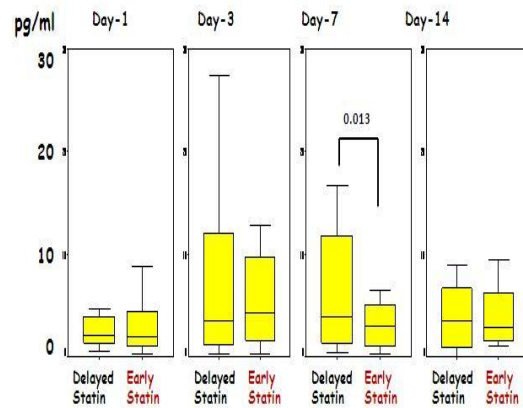


Figure 3. Plasma IL-6 の変化

(2) スタチンの早期投与の進行性脳卒中発症抑制効果

①CS+E 群と D+N 群の比較

入院14日以内の NIHSS ≥ 4 の増悪変動をきたしたものは CS+E 群で 10.9%、D+N 群で 4.0%とスタチンの早期投与群で少なかったが有意ではなかった ($p = 0.131$)。NIHSS ≥ 2 の変動に限ると、20.8%対 8.0%でスタチン早期投与群が有意に増悪変動が少なかった ($p = 0.035$)。

②E 群対 D 群

推計学的に有意な変動増悪の差は見られなかったが、第二種の過誤によるところが大きいと考えられる。なお、元より本研究はこれらの hard outcome を証明するための efficacy study ではなく、炎症性バイオマーカーの変動と増悪変動との関連を検証する proof of concept study である。

以上の結果から、IL-6 の低下と急性期増悪進行との間に関連が示唆され、更なる efficacy study の計画の意義があるものと科が得られた。ただし、Statin naïve な脂質異常症例に対する急性期からのスタチン投与にあつては atrovastatin 10mg では用量が少なく更に高用量での研究デザインを考慮する必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

- 1) Shimizu K, Shimomura K, Tokuyama Y, Sakurai K, Isahaya K, Takaishi S, Kato B, Usuki N, Shimizu T, Yamada K, Hasegawa Y. Association between Inflammatory Biomarkers and Progression of Intracranial Large Artery Stenosis after Ischemic Stroke. J Stroke Cerebrovasc 2011 ;[Epub ahead of print] (査読あり)
- 2) Isahaya K, Yamada K, Yamatoku M, Sakurai K, Takaishi S, Kato B, Hirayama T, Hasegawa Y. Effects of Edaravone, a Free Radical Scavenger, on Serum Levels of Inflammatory Biomarkers in Acute Brain Infarction. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2011 ;[Epub ahead of print] (査読あり)
- 3) 下邨華菜, 清水華奈子, 徳山承明, 櫻井謙三, 伊佐早健司, 高石智, 加藤文太, 長谷川泰弘. 急性期炎症性バイオマーカーと脳梗塞臨床亜病型との関連. 脳卒中 2011;33:564-571 (査読あり)
- 4) 櫻井謙三, 伊佐早健司, 高石智, 加藤文太, 清水華奈子, 下邨華菜, 徳山承明, 長谷川泰弘. 脳梗塞急性期のスタチン投与が末梢血炎症性サイトカイン動態と急性期の進行増悪に与える影響, 臨床神経学 2011;51(1): 6-13 (査読あり)
- 5) 白石眞, 牧口寛子, 山徳雅人, 眞木二葉, 長谷川泰弘. Wallenberg 症候群急性期の嚙下機能評価とリハビリテーションの有用性. 神経治療学 2011; 8(4):429-435 (査読あり)
- 6) 清水高弘, 下出淳子, 佐々木央我, 徳山承明, 伊佐早健司, 今井健, 萩原悠太, 鶴岡淳, 熱海千尋, 水上平祐, 榛沢和彦, 長谷川泰弘. 急性期脳血管障害患者の下肢深部静脈血栓症における臥位膝窩静脈径計測の意義. 脳卒中 2011; 33(3): 319-325 (査読あり)
- 7) Shiraishi M, Kobayashi T, Watanabe H, Kamo T, Hasegawa Y. Serum somato-statin in early-stage Parkinson's disease Acta Neurol Scand. e-pub 2010 (査読あり)

[学会発表] (計 10 件)

1. Shimomura K, Shimizu K, Tokuyama Y, Sakurai K, Isahaya K, Takaishi S, Kato B, Hasegawa Y. Circulating Levels of Inflammatory Biomarkers Associated with Ischemic Stroke Subtypes. 5th Japanese-Korean Joint Stroke

- Conference. Gyeongju, Korea, Oct 28-30, 2011
2. Akiyama H, Hasegawa Y, Kato T, Akiyama H, Hasegawa Y. Stroke knowledge: A Nationwide, Internet-Based Survey of 11,121 Inhabitants in Japan. 136th Annual Meeting of the American Neurological Association, San Diego, CA, USA, Sept 25-27, 2011
3. Sasaki N, Hasegawa Y. Usefulness of Measurement of Plasma Pentraxin3 (PTX3) as a New Vascular Inflammatory Biomarker on Acute Ischemic Stroke. The 63rd American Academy of Neurology Annual Meeting, Apr9-16, 2011, Hawaii, USA
4. Sakurai k, Isahaya K, Takaishi S, Kato B, Shimizu K, Shimomura K, Tokuyama Y, Hasegawa Y. Effects of early statin treatment on inflammatory biomarkers and outcome in patients with acute ischemic stroke. XIX European Stroke Conference, Barcelona, Spain, May 25-28, 2010
5. Takaishi S, Sakurai K, Isahaya K, Shimizu K, Shimomura K, Tokuyama Y, Hasegawa Y. Changes in inflammatory biomarkers and neurological deterioration in patients with acute brain infarction. International Stroke Conference 2010, San Antonio, Tx (2010.2.24-2.26)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長谷川 泰弘 (HASEGAWA YASUHIRO)
 聖マリアンナ医科大学・医学部・教授
 研究者番号: 40231518

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者

平山 俊和 (HIRAYAMA TOSHIKAZU)
 聖マリアンナ医科大学・医学部・講師
 秋山 久尚 (AKIYAMA HISANAO)
 聖マリアンナ医科大学・医学部・講師
 佐々木 直 (SASAKI NAOSHI)
 聖マリアンナ医科大学・医学部・助教
 山田 浩史 (YAMADA KOJI)
 聖マリアンナ医科大学・医学部・助教
 他 大学院生 6名