



Title	小児期発症特発性ネフローゼ症候群における長期ステロイド投与中止後の骨代謝マーカー変化に関する研究
Author(s)	上田, 泰弘
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第15432号
Issue Date	2023-03-23
DOI	10.14943/doctoral.k15432
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/91721
Type	theses (doctoral)
Note	配架番号 : 2750
File Information	UEDA_Yasuhiro.pdf



[Instructions for use](#)

学位論文

小児期発症特発性ネフローゼ症候群における長期ステロイド
投与中止後の骨代謝マーカー変化に関する研究

(Studies on the effect of discontinuation of long-
term glucocorticoid administration on changes in bone
turnover markers in childhood-onset idiopathic ne-
phrotic syndrome)

2023年3月

北海道大学

上田泰弘

学位論文

小児期発症特発性ネフローゼ症候群における長期ステロイド
投与中止後の骨代謝マーカー変化に関する研究

(Studies on the effect of discontinuation of long-
term glucocorticoid administration on changes in bone
turnover markers in childhood-onset idiopathic ne-
phrotic syndrome)

2023年3月

北海道大学

上田泰弘

目次

発表論文目録および学会発表目録	1 頁
要旨	2 頁
略語表	5 頁
緒言	6 頁
方法	8 頁
結果	13 頁
考察	24 頁
結論	27 頁
謝辞	28 頁
利益相反	29 頁
引用文献	30 頁

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

1. Yasuhiro Ueda, Takayuki Okamoto, Yasuyuki Sato, Asako Hayashi, Toshiyuki Takahashi, Ryota Suzuki, Hayato Aoyagi, Michihiko Ueno, Norio Kobayashi, Kimiaki Uetake, Masanori Nakanishi, Tadashi Ariga, Atsushi Manabe

Changes in bone turnover markers after discontinuing long-term glucocorticoid administration in children with idiopathic nephrotic syndrome: A multicenter observational study

Pediatr Nephrol (投稿中)

本研究の一部は以下の学会に発表した。

1. 上田泰弘、高橋俊行、鈴木諒太、林麻子、佐藤泰征、岡本孝之
小児特発性ネフローゼ症候群におけるステロイド投与と骨代謝マーカーの経時的変化

第 57 回日本小児腎臓病学会学術集会、2022 年 5 月 27-28 日・沖縄

2. 上田泰弘、高橋俊行、鈴木諒太、林麻子、佐藤泰征、岡本孝之
小児特発性ネフローゼ症候群におけるステロイド投与と骨代謝マーカーの経時的変化に関する検討

第 65 回日本腎臓学会学術集会、2022 年 6 月 10-12 日・兵庫

3. Yasuhiro Ueda, Toshiyuki Takahashi, Ryota Suzuki, Asako Hayashi, Yasuyuki Sato, Takayuki Okamoto

Glucocorticoid administration and changes in bone turnover markers in pediatric idiopathic nephrotic syndrome

The 19th Congress of the International Pediatric Nephrology Association、2022 年 9 月 7-11 日・カナダ

要旨

【背景と目的】

骨代謝マーカーは骨回転の動的指標であり、成人骨粗鬆症診療では治療反応性のモニタリングや骨折予測に応用されている。骨代謝マーカーは大きく骨形成マーカーと骨吸収マーカーに分けられる。骨形成マーカーは骨芽細胞の酵素や、コラーゲン形成の際にできる物質で骨芽細胞の活動を反映し、骨吸収マーカーは破骨細胞の酵素や、主に I 型コラーゲンの変性物質であり破骨細胞の活動を反映する。ステロイドは骨代謝に影響を与え、小児においてはステロイドの長期投与により骨形成マーカー、骨吸収マーカーともに低下することが報告されている。ステロイド中止後の骨代謝マーカー変化については報告が少なく、これまでの少数の報告によるとステロイド投与期間が比較的短期間であれば、変化した骨代謝マーカーはステロイド中止後すみやかに回復するようである。一方、年単位のステロイド長期投与については、ステロイド中止後に骨代謝マーカーがどのように変化するか検討した報告はない。近年、ネフローゼ症候群の寛解維持目的でリツキシマブが投与されるようになり、ステロイドの長期投与を余儀なくされていた患者においてもステロイドを少なくとも一時的には中止できるようになった。本研究の主な目的は、ステロイドの長期投与を受けた小児期発症特発性ネフローゼ症候群患者においてステロイド中止後の骨代謝マーカー変化を検討することである。

【対象と方法】

2015 年 1 月から 2021 年 3 月までの間に北海道大学病院小児科に入院してリツキシマブの初回投与を受けた小児期発症特発性ネフローゼ症候群の患者を対象に、後ろ向き観察研究を行った。組み入れ基準は以下の通りである。1) リツキシマブ初回投与時に 18 歳未満、2) 4-6 か月おきに 2 回以上のリツキシマブを投与された、3) リツキシマブ投与のたびに骨代謝マーカーを測定され、かつステロイド投与下とステロイド中止後の骨代謝マーカーを連続して評価可能。各患者において 18 歳未満でのデータを対象とし、18 歳以降のデータは解析から除外した。骨代謝マーカーとして血清骨型アルカリホスファターゼ (bone alkaline phosphatase: BAP)、血清インタクト I 型プロコラーゲン-N-プロペプチド (intact procollagen type 1 N-terminal propeptide: P1NP)、血清酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ-5b (tartrate-resistant acid phosphatase-5b: TRACP-5b) を評価した。BAP と intact P1NP は年齢ごとに正規分布せず、また日本人小児における標準データがないため、それぞれ自然対数、対数に変換した後にヨーロッパの小児における年齢、性別ごとの標準データを用いて SD (standard

deviation)スコアを算出した。TRACP-5b は思春期での変動が少ないことが報告されており実測値を用いた。リツキシマブ投与後にステロイドを中止できた症例について、ステロイド投与下とステロイド中止後の骨代謝マーカー変化と、ステロイド投与下における1日あたりステロイド投与量の関連を評価した。

【結果】

対象となった29人の患者において、ステロイド投与下とステロイド中止後の骨代謝マーカーのペア計38組で解析を行った。同一患者で複数ペアの解析を許容した。ベースラインでの患者の年齢は中央値12.4(四分位範囲9.0-14.5)歳、ネフローゼ症候群の罹病期間は中央値5.9(3.3-9.7)年だった。ステロイド中止後の骨代謝マーカー測定はステロイド中止から平均 3.5 ± 1.0 か月で行われた。ステロイド投与下骨代謝マーカー測定時の1日あたりプレドニゾン投与量は、中央値17.5(4.7-31.3) mg/day、0.44(0.11-0.98) mg/kg/dayだった。いずれの骨代謝マーカーもステロイド投与下と比較してステロイド中止後で有意に高値だった(ln BAP SD スコア: 0.06 (-0.71-0.93) vs. 1.43 (0.89-1.79), $p < 0.01$; log intact P1NP SD スコア: -2.78 (-4.36-2.74) vs. 0.11 (-0.58-1.22), $p < 0.01$; TRACP-5b: 16.1 ± 5.6 U/L vs. 20.8 ± 8.2 U/L, $p < 0.01$)。また、1日あたりプレドニゾン投与量(mg/kg/day)は、すべての骨代謝マーカー変化と正の相関を示した(ln BAP SD スコア変化: $r = 0.38$, $p < 0.05$; log intact P1NP SD スコア変化: $r = 0.56$, $p < 0.01$; TRACP-5b 変化: $r = 0.33$, $p < 0.05$)。ステロイド投与下骨代謝マーカー測定時の1日あたりプレドニゾン投与量が0.25 mg/kg/day 未満ではステロイド中止後に骨代謝マーカーの変化は小さかったが(ln BAP SD スコア: 0.68 (-0.00-1.74) vs. 1.32 (0.38-1.86), $p = 0.19$; log intact P1NP SD スコア: -0.34 (-1.15-1.07) vs. 0.03 (-0.78-0.50), $p = 0.70$; TRACP-5b: 18.5 (13.6-21.5) U/L vs. 16.9 (13.4-25.1) U/L, $p = 0.95$)、1日あたりプレドニゾン投与量が0.25 mg/kg/day 以上では骨代謝マーカーはステロイド中止後に有意に上昇していた(ln BAP SD スコア: -0.45 (-1.32-0.38) vs. 1.42 (1.30-1.75), $p < 0.01$; log intact P1NP SD スコア: -3.81 (-4.92--2.75) vs. 0.56 (-0.47-1.41), $p < 0.01$; TRACP-5b: 13.6 (11.1-18.1) U/L vs. 21.6 (14.0-27.7) U/L, $p < 0.01$)。

【考察】

本研究の結果から、数年間の長期ステロイド投与下では骨形成、骨吸収ともに抑制されるが、ステロイド中止により少なくとも数か月以内に骨代謝の抑制が解除されることが示唆された。このステロイド中止後にみられた骨代謝の可逆性は、内因性ステロイドに曝露される病態であるCushing 症候群の患者にお

いて術後数日から数週間以内に骨形成マーカーが上昇したという報告に矛盾しない。また、1日あたりのステロイド投与量が少なければ骨代謝への影響は軽微な可能性があることが示された。骨代謝の抑制が軽微であることが将来の骨折リスク軽減につながるというエビデンスがあるわけではないが、少なくとも可能な限り少量のステロイド投与量を目指すことで骨代謝への悪影響を軽減できる可能性が示唆された。小児においては成人と異なりこれまでステロイド性骨粗鬆症に対して積極的な治療が行われることは少なく、また成長、思春期などが骨代謝に与える影響から骨代謝マーカーの評価が困難という側面もあり骨代謝マーカーの臨床応用は進んでいなかった。近年、小児ステロイド性骨粗鬆症に対する治療としてビスホスホネート製剤についての有用性、安全性についての報告が増えており今後治療の選択肢となる可能性があり、また抗 receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand 抗体、組み換えヒト parathyroid hormone 製剤、抗スクレロスチン抗体などの新規骨粗鬆症治療薬の登場もあり、小児においても臨床試験や実地臨床で治療効果のモニタリングとして骨代謝マーカーが活用される可能性があり、本研究のようなステロイドと骨代謝マーカーに関する基礎的データの集積が望まれる。本研究の限界として、少数患者の後方視的検討であること、ステロイドについては骨代謝マーカー測定時の1日あたりステロイド投与量のみで検討したこと、骨代謝マーカーの標準化の際に日本人小児の標準データがなかったためヨーロッパ人小児のデータを用いたこと、があげられる。今後、ステロイドと骨代謝マーカーの関連について大規模で前向きな研究が行われることが望まれる。

【結論】

長期間のステロイド投与中止後、骨代謝の抑制は数か月程度までの間に解除されることが示唆された。1日あたりステロイド投与量が少なければ骨代謝に与える影響は軽微である可能性がある。

略語表

本文中および図表中で使用した略語は以下のとおりである。

BAP	bone alkaline phosphatase
BMI	body mass index
PSL	prednisolone
PTH	parathyroid hormone
P1NP	procollagen type 1 N-terminal propeptide
SD	standard deviation
TRACP-5b	tartrate-resistant acid phosphatase-5b

緒言

ステロイドはさまざまな機序を介して骨に悪影響を与え、長期投与によりステロイド性骨粗鬆症をきたす (Chotiyarnwong and McCloskey, 2020)。ステロイドは骨芽細胞の分化抑制、アポトーシス促進により骨形成を抑制し、また骨細胞のアポトーシスも促進する (Weinstein et al., 1998)。ステロイドの骨吸収への影響についてはさまざまな報告があり意見の一致をみないところもあるが (Chotiyarnwong and McCloskey, 2020, Bornefalk et al., 1998)、破骨細胞の分化促進、成熟化促進、生存延長により少なくともステロイド投与の早期には骨吸収を亢進させることが示されている (Chotiyarnwong and McCloskey, 2020, Compston, 2018)。

骨代謝マーカーは骨回転の動的指標であり (Jürimäe, 2010)、成人骨粗鬆症診療では治療反応性のモニタリングや、ある程度までは骨折予測に応用されている (Vasikaran et al., 2011)。骨代謝マーカーは骨形成マーカーと骨吸収マーカーに分けられる (Jürimäe, 2010)。骨形成マーカーは骨芽細胞の酵素や、コラーゲン形成の際にできる物質であり、骨芽細胞の活動、すなわち骨形成を反映する。骨吸収マーカーは破骨細胞の酵素や、主に I 型コラーゲンの変性物質であり、破骨細胞の活動、すなわち骨吸収を反映する。

ステロイド投与開始後の骨代謝マーカー変化についてはすでに複数の報告があり、ほとんどの症例で骨形成マーカーは低下したと報告されている (Wolthers et al., 1993, Paglia et al., 2001, Ahmed et al., 2002, Bath et al., 2004, Biyikli et al., 2004, Dovio et al., 2004, Vihinen et al., 2008, Brabnikova Maresova et al., 2013, Aceto et al., 2014)。ステロイド開始後の骨吸収マーカー変化は議論のあるところであり、成人では上昇するという報告が多い一方で小児では低下するという報告が多く、この違いの理由はよくわかっていない (Wolthers et al., 1993, Paglia et al., 2001, Ahmed et al., 2002, Bath et al., 2004, Dovio et al., 2004, Vihinen et al., 2008, Brabnikova Maresova et al., 2013)。

一方、ステロイド中止後の骨代謝マーカー変化については報告が少ない。これまでの報告によるとステロイド投与期間が比較的短期間であれば、ステロイド投与により変化した骨代謝マーカーはステロイド中止後すみやかに回復するようである (Godschalk and Downs, 1988, Crofton et al., 1998, Dovio et al., 2004)。しかし、長期間の投与後にステロイドを中止した際、骨代謝マーカーがどのように変化するか検討した報告はない。

近年、小児ネフローゼ症候群の寛解維持目的でリツキシマブが投与されるようになり、それまでステロイドの長期投与を余儀なくされていた患者において

もステロイドを一時的にあるいは長期的に中止できるようになった (Iijima et al., 2014, Kamei et al., 2017)。本研究の主な目的は、リツキシマブ投与後にステロイドを中止できた小児期発症特発性ネフローゼ症候群患者においてステロイド中止後の骨代謝マーカー変化を検討することである。

方法

2015年1月から2021年3月までの間に北海道大学病院小児科に入院してリツキシマブの初回投与を受けた小児期発症特発性ネフローゼ症候群の患者を対象に、後ろ向き観察研究を行った。電子カルテから患者情報、データを抽出した。この研究は北海道大学病院生命・医学系研究倫理審査委員会によって承認された（研究番号：自021-0094）。すべての対象者はリツキシマブの有用性を評価するために当科ですすでに行われた自主臨床研究（Takahashi et al., 2019）、または現在進行中の別の自主臨床研究の参加者であり、今回の研究については北海道大学病院のウェブサイト上でオプトアウトにより参加を拒否する機会が与えられた。また、一部の患者に関してはリツキシマブ投与が耐糖能や quality of life に及ぼす効果についてすでに報告されている（Takahashi et al., 2020, Takahashi et al., 2022）。

組み入れ基準は以下の通りである。1) リツキシマブ初回投与時に18歳未満、2) 2回以上のリツキシマブを投与された、3) リツキシマブ投与のたびに骨代謝マーカーを測定され、かつステロイド投与下とステロイド中止後の骨代謝マーカーを連続して評価可能。各患者において18歳未満でのデータを対象とし、18歳以降のデータは解析から除外した。

除外基準は以下の通りである。1) 解析対象となる骨代謝マーカー測定前1年間での骨折既往、2) 心血管疾患・消化管疾患・肝疾患・肺疾患・内分泌疾患・骨系統疾患などの罹患、3) 低栄養、4) 長期臥床、5) 骨代謝に影響を与える薬剤（抗けいれん薬など）の投与。

観察期間中に骨折した場合は骨折前までのデータは解析に含めた。ビタミンDの投与は骨代謝に影響を与えるが（Lips and van Schoor, 2011）、対象者の半数以上が活性型ビタミンD₃製剤を内服していたためこれらの患者は除外しなかった。また、ネフローゼ状態が骨代謝マーカーにどのような影響を与えるかは報告がないが、本研究では蛋白尿が出ている状態で測定された骨代謝マーカーについても解析に含めた。

ネフローゼ症候群は、持続する高度蛋白尿（早朝尿で尿蛋白クレアチニン比2.0 g/gCr以上）かつ低アルブミン血症（血清アルブミン2.5 g/dL未満）を呈するものと定義した。小児期発症特発性ネフローゼ症候群は、18歳未満で発症した一次性ネフローゼ症候群のうち原因が不明なものと定義した。寛解は、早朝尿で尿蛋白陰性または±が3日間続くことと定義した。再発は、早朝尿で尿蛋白3+以上が3日間続くことと定義した。頻回再発型ネフローゼ症候群は、初回寛解後半年以内に2回以上再発、または任意の12か月以内に4回以上再発したものと定義した。ステロイド依存性ネフローゼ症候群は、ステロイドの減量中、ま

たはステロイド中止後 2 週間以内の再発が 2 回続けて起きたものと定義した。ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群は、4 週間のステロイド連日投与によっても寛解しないものと定義した。

ネフローゼ症候群の初発からリツキシマブ初回投与までのステロイド投与は、原則として初発時には国際法 (①prednisolone (PSL) 60 mg/m²/day または 2 mg/kg/day、最大 60 mg/day、分 1-3 連日 4 週間、②PSL 40 mg/m²/day または 1.3 mg/kg/day、最大 40 mg/day、分 1 朝隔日 4 週間)、再発時には国際法変法 (① PSL 60 mg/m²/day または 2 mg/kg/day、最大 60 mg/day、分 1-3 連日、少なくとも尿蛋白消失確認後 3 日目まで、②PSL 60 mg/m²/day または 2 mg/kg/day、最大 60 mg/day、分 1 朝隔日 2 週間、③PSL 30 mg/m²/day または 1 mg/kg/day、最大 30 mg/day、分 1 朝隔日 2 週間、④PSL 15 mg/m²/day または 0.5 mg/kg/day、最大 15 mg/day、分 1 朝隔日 2 週間) にそれぞれ準じて行われたが (Tarshish et al., 1997)、担当医の裁量によった。

われわれの治療戦略に従い、リツキシマブは頻回再発型ネフローゼ症候群またはステロイド依存性ネフローゼ症候群の患者で、シクロスポリンを投与しても再発を抑制できない場合、またはシクロスポリンの減量や中止により再発を繰り返すためシクロスポリンの中止が困難な場合に投与された。われわれのプロトコールに基づき、2015 年 1 月から 2016 年 3 月までにリツキシマブの初回投与を受けた患者は 6 か月おきに計 4 回のリツキシマブ単回投与を受け (375 mg/m²、最大 500 mg)、2016 年 4 月以降にリツキシマブの初回投与を受けた患者は 4 か月おきに計 2 回のリツキシマブ単回投与を受けた。2016 年 4 月以降からリツキシマブの投与プロトコールが変わったのは、われわれの経験から 6 か月おきに 4 回リツキシマブを投与するプロトコールは一部の患者にとって過剰治療である可能性が示唆されたためである (Takahashi et al., 2019)。それぞれのプロトコールにおいて最終リツキシマブ投与 (2015 年 1 月から 2016 年 3 月のプロトコールでは 4 回目、2016 年 4 月以降のプロトコールでは 2 回目の投与) 以降に、再発状況や患者の希望などに応じて追加のリツキシマブ投与を行うときは 6 か月以上の間隔をあけた。

投与時反応の予防としてリツキシマブ投与 30 分前にメチルプレドニゾロン 1-1.5 mg/kg (体重 50 kg 以上または 16 歳以上では 125 mg/dose) 静注、アセトアミノフェン内服、*m*-クロルフェニラミン内服を行った。リツキシマブ投与時にシクロスポリンを内服していた場合、リツキシマブ投与日にシクロスポリンを半量に減量し、1 週間後に中止した。リツキシマブ投与後療法として全例でミゾリビンの内服した。また、ニューモシスチス感染および真菌感染予防としてリツキシマブの初回投与後にスルファメトキサゾール/トリメトプリムとフルコナゾールの内服を開始した。

リツキシマブ導入以降のステロイド漸減、および再発時のステロイド投与はわれわれが定めた以下のプロトコールに従って行われた（図1）。リツキシマブ投与時にPSLの連日投与が行われていた場合、リツキシマブ投与の2週間から1日あたりの投与量はそのまま隔日投与とし（例：60 mg/day、連日、から60 mg/day、隔日へ）、以後2週間おきに半減していき中止した（例：60 mg/day、隔日、2週；30 mg/day、隔日、2週；15 mg/day、隔日、2週；7.5 mg/day、隔日、2週；中止）。リツキシマブ投与時にPSLの隔日投与が行われていた場合、リツキシマブ投与の2週間から隔日投与のままPSLの1日あたり投与量を半量とし、以後2週間おきに半減して中止した。リツキシマブ導入後に再発した場合、PSL 60 mg/m²/day（最大60 mg/day）を尿蛋白陰性化後3日目まで連日投与し、以後、60 mg/m²/day（最大60 mg/day）、隔日、2週；30 mg/m²/day（最大30 mg/day）、隔日、2週、・・・、のように2週間ごとに漸減中止した。PSLの投与方法に関して、担当医の判断による微小な修正は許容した。

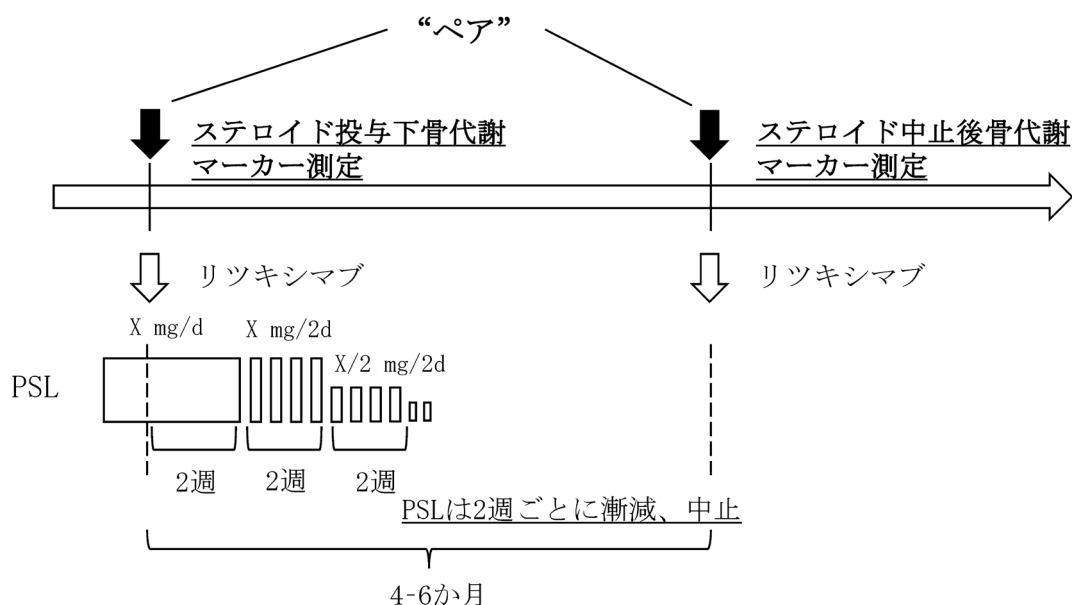


図1 リツキシマブ投与、骨代謝マーカー測定、ステロイド漸減のプロトコール

略語：PSL, prednisolone

抽出されたデータは性別、腎生検での病理組織型、ステロイド抵抗性の既往、ベースラインまでの再発回数、ネフローゼ症候群発症時の年齢、ベースライン時の年齢、ベースラインまでのネフローゼ症候群罹患期間、ベースラインまでに投与された免疫抑制薬、ベースライン時の身長、体重、body mass index (BMI)、

検査データ（骨代謝マーカー、血清アルブミン、血清クレアチニン、血清カルシウム、血清リン、血清 intact parathyroid hormone (PTH)）、活性型ビタミン D₃ 製剤投与の有無、PSL 投与の経過、である。

身長は標準的な身長計を用いて直近の 0.1 cm まで、体重は標準的な電子体重計を用いて直近の 0.1 kg まで測定した。身長、体重、BMI については、日本人小児の標準データを用いて standard deviation (SD) スコアを計算した (Isojima et al., 2016, Kato et al., 2011)。

各リツキシマブ投与前（投与日かその前数日以内）、午前 10 時から 12 時の間に非空腹時の血液が採取された。骨代謝マーカーは、骨形成マーカーとして血清骨型アルカリホスファターゼ (bone alkaline phosphatase: BAP)、血清インタクト I 型プロコラーゲン-N-プロペプチド (intact procollagen type 1 N-terminal propeptide: P1NP) が、骨吸収マーカーとして血清酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ-5b (tartrate-resistant acid phosphatase-5b: TRACP-5b) がそれぞれ測定された。推算糸球体濾過率は、クレアチニンに基づく日本人小児の式から計算した (Uemura et al., 2014)。血清アルブミン濃度が 4 g/dL 未満の場合、血清カルシウム濃度は以下の式で補正された。

補正カルシウム濃度 (mg/dL) = 測定カルシウム濃度 (mg/dL) + (4 - アルブミン濃度 (g/dL))

骨代謝マーカー測定時の 1 日あたり PSL 投与量は、体重 kg あたりの PSL 量に換算された。PSL が隔日投与されていた場合、PSL 投与量を 2 で割った値を 1 日あたり PSL 投与量とした (例: PSL 30 mg、隔日、であれば、1 日あたり PSL 投与量は 15 mg/day)。

骨代謝マーカー測定のための血液サンプルについては、採血後 1 時間以内に遠心され、血清は測定まで -80°C で保存された。骨代謝マーカーの測定は測定キット製造元の説明書通りに行われた。血清 BAP は化学発光酵素免疫法で測定され (Access Ostase, Beckman Coulter, Brea, CA, USA)、変動係数は 1.5-2.6% だった。血清 intact P1NP はラジオイムノアッセイで測定され (Procollagen Intact P1NP, FUJI-REBIO, Tokyo, Japan)、変動係数は 15% 以下だった。血清 TRACP-5b は酵素免疫法で測定され (Osteolinks TRAP-5b, SB Bioscience, Tokyo, Japan)、変動係数は 15% 以下だった。

BAP と intact P1NP は年齢ごとに正規分布せず、成長を反映して思春期に変動することが報告されており (Rauchenzauner et al., 2007, Crofton et al., 2004)、また日本人小児における標準データがないため、ヨーロッパの小児における年齢、性別ごとの標準データを用いてそれぞれ自然対数、対数に変換した後 SD スコアを算出した (Rauchenzauner et al., 2007, Crofton et al., 2004)。TRACP-5b は思春期での上昇がないことが報告されており (Rauchenzauner et

al., 2007)、実測値を用いた。

解析対象となる最初のステロイド投与下骨代謝マーカー測定時を「ベースライン」とした。すなわち、それぞれの患者にとってリツキシマブ初回投与時がベースラインと一致するとは限らない。ステロイド投与下で測定された骨代謝マーカーと、それに連続するステロイド中止後の骨代謝マーカーをセットで「ペア」とし (図 1)、骨代謝マーカーの変化を調べた。同一患者で複数ペアの解析を許容した。

データの欠失は解析から除外した。データの正規性評価は Shapiro-Wilk 検定で行った。連続変数はデータの分布に応じて平均±SD、または中央値 (四分位範囲) で示した。カテゴリ変数は頻度と割合で示した。2 群間の連続変数については対応のある t 検定、または Wilcoxon の符号付き順位検定で解析した。ただし、1 日あたり PSL 投与量 0.25 mg/kg/day 未満の群のステロイド投与下骨代謝マーカーと 1 日あたり PSL 投与量 0.25 mg/kg/day 以上の群のステロイド投与下骨代謝マーカーとの比較は Student の t 検定で解析した。2 群間の相関は Pearson の相関係数を用いて評価した。 $p < 0.05$ を統計学的に有意とした。統計解析は JMP Pro 16.2.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) で行った。

結果

対象患者

2015年1月から2021年3月までの間にリツキシマブの初回投与を受けた49人のうち、37人が適格だった(図2)。ビスホスホネートの投与歴、内分泌疾患、直近の骨折により8人が除外され、最終的に29人の患者で、ステロイド投与下とステロイド中止後の骨代謝マーカーについて計38ペアが組み入れられた。解析対象となった骨代謝マーカーのペアは、21人で1ペア、7人で2ペア、1人で3ペアだった。

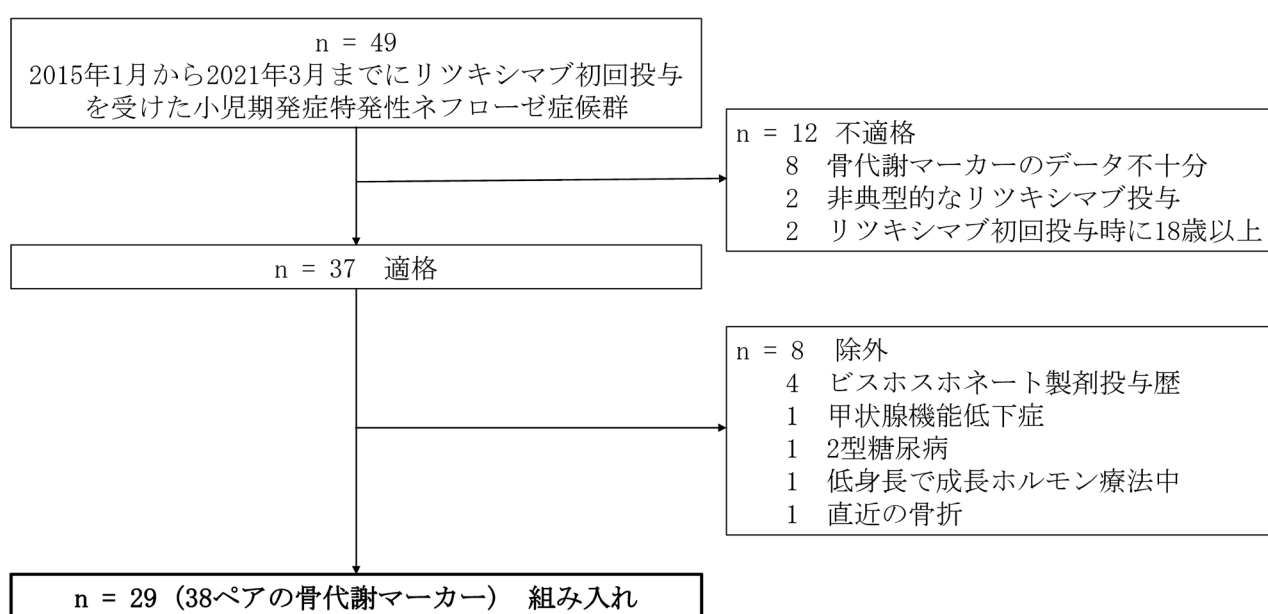


図2 患者フロー

ベースライン時の臨床特性

対象患者29人のベースライン時臨床特性を表1に示す。女性11人(38%)、男性18人(62%)で、7人(24%)にステロイド抵抗性の既往があった。ネフローゼ症候群の発症年齢は中央値3.8(2.6-6.6)歳、ベースライン時の年齢は中央値12.4(9.0-14.5)歳、ネフローゼ症候群の罹病期間は中央値5.9(3.3-9.7)年だった。ベースライン時の身長、体重、BMIの平均SDスコアはそれぞれ、 -1.26 ± 1.26 、 -0.25 ± 1.24 、 0.43 ± 1.19 だった(1人の身長データ欠失のため、28人で解析)。20人(69%)の患者は活性型ビタミンD₃製剤を内服していた。

表 1 ベースラインの臨床特性 (n = 29)

性別	女	11 (38%)
	男	18 (62%)
病理組織型	微小糸球体変化	19 (66%)
	巣状分節性糸球体硬化	1 (3%)
	腎生検未施行	9 (31%)
ステロイド抵抗性の既往	7 (24%)	
ベースライン前の再発回数 (回)	1-10	12 (41%)
	11-20	8 (28%)
	21-30	3 (10%)
	不明	6 (21%)
ネフローゼ症候群発症年齢 (歳)	3.8 (2.6-6.6)	
ベースライン時年齢 (歳)	12.4 (9.0-14.5)	
ベースラインまでのネフローゼ症候群罹病期間 (年)	5.9 (3.3-9.7)	
ベースラインまでに投与された免疫抑制薬	シクロスポリン	13 (45%)
	シクロスポリン + ミゾリビン	9 (31%)
	ミゾリビン	7 (24%)
ベースライン時身長 ^a (cm)	135.8 ± 17.0	
ベースライン時身長 SD スコア ^a	-1.26 ± 1.26	
ベースライン時体重 ^a (kg)	36.9 ± 10.5	
ベースライン時体重 SD スコア ^a	-0.25 ± 1.24	
ベースライン時 BMI ^a (kg/m ²)	19.3 (16.5-20.8)	
ベースライン時 BMI SD スコア ^a	0.43 ± 1.19	
ベースライン時に活性型ビタミン D ₃ 製剤投与	20 (69%)	

カテゴリー変数は頻度 (割合) で示す。連続変数は平均値 ± SD、または中央値 (四分位範囲) で示す。患者ごとに初めて解析対象となった骨代謝マーカー測定時をベースラインとする。

^a 1 人の患者の身長データ欠失のため 28 人で解析。

略語: BMI, body mass index; SD, standard deviation

ステロイド投与下と中止後の骨代謝マーカー38 ペアに関する臨床特性

38 ペアの骨代謝マーカーに関する、ステロイド投与下とステロイド中止後の臨床特性を表 2 に示す。再発による直近のステロイド増量からステロイド投与下骨代謝マーカー測定までの中央値は 40 (17-118) 日だった。ステロイド投与下

骨代謝マーカー測定時の 1 日あたり PSL 投与量は、中央値 17.5 (4.7-31.3) mg/day、0.44 (0.11-0.98) mg/kg/day だった。ステロイド投与下骨代謝マーカー測定時に PSL が連日投与されていたのは 16 ペア (42%)、隔日投与されていたのは 22 ペア (58%) だった。PSL 中止からステロイド中止後骨代謝マーカー測定までの期間は 3.5 ± 1.0 か月だった。ステロイド投与下骨代謝マーカー測定時の年齢中央値は 12.8 (9.7-14.6) 歳で、ステロイド中止後骨代謝マーカー測定時の年齢中央値は 13.3 (10.2-15.1) 歳だった。ステロイド中止後骨代謝マーカー測定時は、ステロイド投与下骨代謝マーカー測定時と比較して身長 SD スコアが高く、体重 SD スコアと BMI SD スコアが低かった。ステロイド中止後骨代謝マーカー測定時は、ステロイド投与下骨代謝マーカー測定時と比較して血清アルブミン値が高かった。ステロイド中止後骨代謝マーカー測定時は、ステロイド投与下骨代謝マーカー測定時と比較して血清リン値が高く血清 intact PTH 値が低かった。

対象者のベースラインを含む 29 ペアだけに限ったステロイド投与下、およびステロイド中止後骨代謝マーカー測定時点の臨床特性を表 3 に示す。同一対象者で複数ペアの解析を許容した場合 (38 ペアの解析) と比較して、ステロイド投与下骨代謝マーカー測定時の 1 日あたり PSL 投与量が 0.31 (0.08-1.12) mg/kg/day とやや小さくなり、ステロイド投与下、ステロイド中止後どちらにおいても体重 SD スコア、BMI SD スコアがやや小さかったが、全体としては臨床特性に顕著な差異はみられなかった。

表 2 38 ペアの骨代謝マーカー測定に関するステロイド投与下とステロイド中止後の臨床特性

	ステロイド投与下	ステロイド中止後	<i>p</i> 値
再発による PSL 増量からの期間 ^a (日)	40 (17-118)	—	—
PSL 投与量変更からの期間 ^b (日)	15 (9-29)	—	—
1 日あたり PSL 投与量 ^c (mg/day)	17.5 (4.7-31.3)	—	—
1 日あたり PSL 投与量 ^c (mg/kg/day)	0.44 (0.11-0.98)	—	—
PSL 投与法	連日	16 (42%)	—
	隔日	22 (58%)	—
PSL 中止からの期間 (月)	—	3.5 ± 1.0	—
活性型ビタミン D ₃ 製剤投与	25 (66%)	28 (74%)	—
年齢 (歳)	12.8 (9.7-14.6)	13.3 (10.2-15.1)	< 0.01
身長 ^d (cm)	138.4 ± 16.4	141.2 ± 15.8	< 0.01
身長 SD スコア ^d	-1.29 ± 1.15	-1.19 ± 1.09	< 0.01
体重 ^d (kg)	39.8 ± 11.8	39.5 ± 11.9	0.55
体重 SD スコア ^d	-0.18 ± 1.22	-0.48 ± 1.18	< 0.01
BMI ^d (kg/m ²)	19.9 (17.1-23.0)	18.7 (16.4-22.1)	< 0.01
BMI SD スコア ^d	0.50 ± 1.19	0.12 ± 1.15	< 0.01
血清アルブミン (g/dL)	4.0 ± 0.5	4.5 ± 0.2	< 0.01
血清クレアチニン (mg/dL)	0.42 ± 0.10	0.46 ± 0.12	< 0.01
推算糸球体濾過率 ^d (mL/min/1.73m ²)	125.3 ± 19.5	121.1 ± 19.7	0.17
補正血清カルシウム (mg/dL)	9.6 (9.4-9.8)	9.7 (9.4-10.0)	0.23
血清リン (mg/dL)	4.0 ± 0.6	4.4 ± 0.5	< 0.01
血清 intact PTH (pg/mL)	41 ± 20	32 ± 17	< 0.01

カテゴリー変数は頻度 (割合) で示す。連続変数は平均値 ± SD、または中央値 (四分位範囲) で示す。

^a PSL 投与データ欠失のため 34 ペアで解析。

^b PSL 投与データ欠失のため 35 ペアで解析。PSL 投与量変更とは、再発による PSL 増量、または PSL 漸減の経過における減量を意味する。

^c PSL が隔日投与されていた場合、投与日の PSL 投与量を 2 で割った値を 1 日あたり PSL 投与量とする (例: PSL 30mg が隔日投与されているとき、1 日あたり PSL 投与量は 15 mg/day)。

^d 身長データ欠失のため 37 ペアで解析。

略語: BMI, body mass index; PSL, prednisolone; PTH, parathyroid hormone; SD, standard deviation

表 3 対象者のベースラインにおける 29 ペアの骨代謝マーカー測定に関するステロイド投与下とステロイド中止後の臨床特性

	ステロイド投与下	ステロイド中止後	p 値
再発による PSL 増量からの期間 ^a (日)	42 (17-236)	—	—
PSL 投与量変更からの期間 ^b (日)	19 (10-46)	—	—
1 日あたり PSL 投与量 ^c (mg/day)	15 (3.6-32.5)	—	—
1 日あたり PSL 投与量 ^c (mg/kg/day)	0.31 (0.08-1.12)	—	—
PSL 投与法	連日	12 (41%)	—
	隔日	17 (59%)	—
PSL 中止からの期間 (月)	—	3.4 ± 1.0	—
活性型ビタミン D ₃ 製剤投与	20 (69%)	22 (76%)	—
年齢 (歳)	12.4 (9.0-14.5)	12.9 (9.5-15.1)	< 0.01
身長 ^d (cm)	135.8 ± 17.0	138.7 ± 16.5	< 0.01
身長 SD スコア ^d	-1.26 ± 1.26	-1.15 ± 1.18	< 0.01
体重 ^d (kg)	36.9 ± 10.5	36.4 ± 10.2	0.35
体重 SD スコア ^d	-0.25 ± 1.24	-0.60 ± 1.18	< 0.01
BMI ^d (kg/m ²)	19.3 (16.5-20.8)	17.6 (16.1-19.9)	< 0.01
BMI SD スコア ^d	0.43 ± 1.19	-0.02 ± 1.12	< 0.01
血清アルブミン (g/dL)	4.0 ± 0.5	4.5 ± 0.2	< 0.01
血清クレアチニン (mg/dL)	0.40 ± 0.09	0.45 ± 0.12	< 0.01
推算糸球体濾過率 ^d (mL/min/1.73m ²)	128.7 ± 20.0	123.5 ± 21.5	0.18
補正血清カルシウム (mg/dL)	9.6 (9.3-9.9)	9.7 (9.4-10.0)	0.46
血清リン (mg/dL)	4.0 ± 0.6	4.5 ± 0.5	< 0.01
血清 intact PTH (pg/mL)	40 ± 20	31 ± 16	< 0.01

カテゴリー変数は頻度 (割合) で示す。連続変数は平均値 ± SD、または中央値 (四分位範囲) で示す。

^a PSL 投与データ欠失のため 26 ペアで解析。

^b PSL 投与データ欠失のため 27 ペアで解析。PSL 投与量変更とは、再発による PSL 増量、または PSL 漸減の経過における減量を意味する。

^c PSL が隔日投与されていた場合、投与日の PSL 投与量を 2 で割った値を 1 日あたり PSL 投与量とする (例: PSL 30mg が隔日投与されているとき、1 日あたり PSL 投与量は 15 mg/day)。

^d 身長データ欠失のため 28 ペアで解析。

略語: BMI, body mass index; PSL, prednisolone; PTH, parathyroid hormone; SD, standard deviation

ステロイド中止後の骨代謝マーカー変化

ステロイド投与下と中止後の骨代謝マーカー変化を表 4 に示す。すべての骨代謝マーカーはステロイド投与下と比較してステロイド中止後で有意に高値だった (BAP: 56.1 (31.0-74.5) μ g/L vs. 96.4 (57.4-109.6) μ g/L, $p < 0.01$; intact P1NP: 170.6 (97.1-415.1) μ g/L vs. 476.3 (314.7-703.2) μ g/L, $p < 0.01$; TRACP-5b: 16.1 \pm 5.6 U/L vs. 20.8 \pm 8.2 U/L, $p < 0.01$)。BAP と intact P1NP については SD スコアに変換してもこれらの差は有意だった (ln BAP SD スコア: 0.06 (-0.71-0.93) vs. 1.43 (0.89-1.79), $p < 0.01$; log intact P1NP SD スコア: -2.78 (-4.36-2.74) vs. 0.11 (-0.58-1.22), $p < 0.01$)。

表 4 ステロイド投与下とステロイド中止後の骨代謝マーカー変化

	ステロイド投与下	ステロイド中止後	<i>p</i> 値
BAP ^a , μ g/L	56.1 (31.0-74.5)	96.4 (57.4-109.6)	< 0.01
ln BAP SD スコア ^a	0.06 (-0.71-0.93)	1.43 (0.89-1.79)	< 0.01
Intact P1NP ^b , μ g/L	170.6 (97.1-415.1)	476.3 (314.7-703.2)	< 0.01
log intact P1NP SD スコア ^b	-2.78 (-4.36-2.74)	0.11 (-0.58-1.22)	< 0.01
TRACP-5b ^c , U/L	16.1 \pm 5.6	20.8 \pm 8.2	< 0.01

連続変数は平均値 \pm SD、または中央値 (四分位範囲) で示す。

^a データ欠失のため 37 ペアで解析

^b データ欠失のため 33 ペアで解析

^c 38 ペアで解析

略語: BAP, bone alkaline phosphatase; P1NP, procollagen type 1 N-terminal propeptide; SD standard deviation; TRACP-5b, tartrate-resistant acid phosphatase-5b

対象者ごとのベースラインを含む 29 ペアだけに限ってステロイド投与下とステロイド中止後の骨代謝マーカーを比較したが、同一対象者で複数ペアの解析を許容した場合と同様にすべての骨代謝マーカーはステロイド中止後で有意に高値だった (BAP: 58.6 (31.8-69.5) μ g/L vs. 96.4 (61.2-110.5) μ g/L, $p < 0.01$; ln BAP SD スコア: 0.10 (-0.71-0.68) vs. 1.53 (0.68-1.88), $p < 0.01$; intact P1NP: 223.2 (104.3-429.4) μ g/L vs. 525.1 (418.3-714.7) μ g/L, $p < 0.01$; log intact P1NP SD スコア: -2.78 (-4.36--0.34) vs. 0.50 (-0.59-1.22), $p < 0.01$; TRACP-5b: 17.0 \pm 5.6 U/L vs. 22.0 \pm 7.6 U/L, $p < 0.01$)。

ステロイド中止後における骨代謝に影響を与えうる因子の変化と骨代謝マーカー変化との相関

ステロイド中止後における骨代謝に影響を与えうる因子の変化と骨代謝マーカー変化の相関を表5に示す。1日あたりPSL投与量(mg/kg/day)はすべての骨代謝マーカーと有意な正の相関を示したが、身長SDスコアの変化、血清アルブミン値の変化、血清リン値の変化、血清 intact PTH 値の変化はどの骨代謝マーカー変化とも有意な相関を示さなかった。

表 5 ステロイド中止後における骨代謝に影響を与えうる因子の変化と骨代謝マーカー変化との相関

	ln BAP SD スコアの変化 ^a		log intact P1NP SD スコア の変化 ^b		TRACP-5b (U/L) の変化 ^c	
ステロイド投与下 1 日あたり PSL 投与量 (mg/kg/day)	$r = 0.38$	$p < 0.05$	$r = 0.56$	$p < 0.01$	$r = 0.33$	$p < 0.05$
身長 SD スコアの変化	$r = 0.10$	$p = 0.56$	$r = 0.20$	$p = 0.27$	$r = 0.24$	$p = 0.14$
血清アルブミン値 (g/dL) の変化	$r = 0.16$	$p = 0.36$	$r = 0.29$	$p = 0.10$	$r = 0.14$	$p = 0.39$
血清リン値 (mg/dL) の変化	$r = -0.05$	$p = 0.79$	$r = 0.21$	$p = 0.24$	$r = 0.19$	$p = 0.25$
血清 intact PTH 値 (pg/mL) の変化	$r = -0.04$	$p = 0.83$	$r = -0.26$	$p = 0.15$	$r = -0.24$	$p = 0.14$

^a 1 ペアでのデータ欠失のため 37 ペアで解析.

^b 5 ペアでのデータ欠失のため 33 ペアで解析.

^c 38 ペアで解析.

略語: BAP, bone alkaline phosphatase; PSL, prednisolone; PTH, parathyroid hormone; P1NP, procollagen type 1 N-terminal propeptide; SD standard deviation; TRACP-5b, tartrate-resistant acid phosphatase-5b

1日あたりステロイド投与量と骨代謝マーカー変化との関連

ステロイド投与下の1日あたりPSL投与量とステロイド中止後の骨代謝マーカー変化との相関を図3に示す。1日あたりPSL投与量 (mg/kg/day)は、すべての骨代謝マーカー変化と正の相関を示した (ln BAP SD スコア変化: $r=0.38$, $p<0.05$; log intact P1NP SD スコア変化: $r=0.56$, $p<0.01$; TRACP-5b 値変化: $r=0.33$, $p<0.05$)。

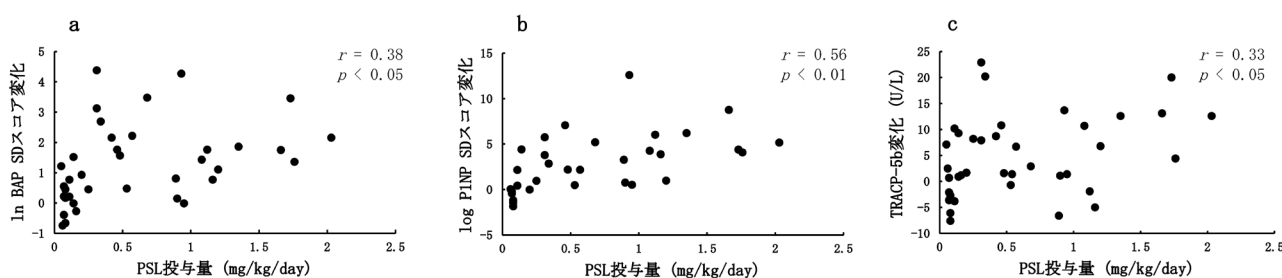


図3 1日あたりプレドニゾロン投与量と骨代謝マーカー変化との相関

ステロイド投与下骨代謝マーカー測定時の1日あたりPSL投与量 (mg/kg/day)と、ln BAP SD スコアの変化 (a)、log intact P1NP SD スコアの変化 (b)、TRACP-5b 値の変化 (c)との相関を示す。各種骨代謝マーカー変化と1日あたりPSL投与量との間には正の相関があった。PSLが隔日投与のときは、1日のPSL投与量を2で割った値を1日あたりPSL投与量とした (例: PSL 30 mgが隔日投与されていた場合、1日あたりPSL投与量は15 mg/day)。1日あたりPSL投与量はステロイド投与下骨代謝マーカー測定時の体重あたり投与量に換算した。

略語: BAP, bone alkaline phosphatase; P1NP, procollagen type 1 N-terminal propeptide; PSL, prednisolone, SD, standard deviation; TRACP-5b, tartrate-resistant acid phosphatase-5b

次に、ステロイド中止前後の骨代謝マーカー変化を1日あたりPSL投与量0.25 mg/kg/dayをカットオフ値として層別化し解析した (図4)。ステロイド投与下骨代謝マーカーについては、1日あたりPSL投与量が0.25 mg/kg/day未満の群と比較して0.25 mg/kg/day以上の群ではいずれの骨代謝マーカーも低値だった (ln BAP SD スコア: 0.68 (-0.00-1.74) vs. -0.45 (-1.32-0.38), $p<0.01$; log intact P1NP SD スコア: -0.34 (-1.15-1.07) vs. -3.81 (-4.92--2.75), $p<0.01$; TRACP-5b: 18.5 (13.6-21.5) U/L vs. 13.6 (11.1-18.1) U/L, $p<0.05$)。さらに、1日あたりPSL投与量が0.25 mg/kg/day未満ではステロイド中止前後の骨代謝マーカー変化は小さかったが (ln BAP SD スコア: 0.68 (-0.00-1.74) vs. 1.32 (0.38-1.86), $p=0.19$; log intact P1NP SD スコア: -0.34 (-1.15-1.07) vs. 0.03 (-0.78-0.50), $p=0.70$; TRACP-5b: 18.5 (13.6-21.5) U/L vs. 16.9 (13.4-25.1) U/L, $p=0.95$)、1日あたりPSL投与量が0.25 mg/kg/day以上

ではステロイド投与下の骨代謝マーカーと比較してステロイド中止後の骨代謝マーカーが有意に高値だった (ln BAP SD スコア: $-0.45 (-1.32-0.38)$ vs. $1.42 (1.30-1.75)$, $p<0.01$; log intact P1NP SD スコア: $-3.81 (-4.92--2.75)$ vs. $0.56 (-0.47-1.41)$, $p<0.01$; TRACP-5b: $13.6 (11.1-18.1)$ U/L vs. $21.6 (14.0-27.7)$ U/L, $p<0.01$)。

ステロイド中止から骨代謝マーカー上昇までの期間

ステロイド中止から骨代謝回復までの期間をより明確にするため、1日あたり PSL 投与量が 0.25 mg/kg/day 以上のペアについて、PSL 中止からステロイド中止後骨代謝マーカー測定までの期間と骨代謝マーカー変化の関連を検討した (図 5)。PSL 中止からステロイド中止後骨代謝マーカー測定までの期間が 1.3 か月だったペアにおいて ln BAP SD スコア、log intact P1NP SD スコア、TRACP-5b、いずれもステロイド中止後に上昇していた (図 5 a、b、c それぞれにおける一番左の点)。その他に、PSL 中止からステロイド中止後骨代謝マーカー測定までの期間と骨代謝マーカー変化との間には特定の傾向はみられなかった。

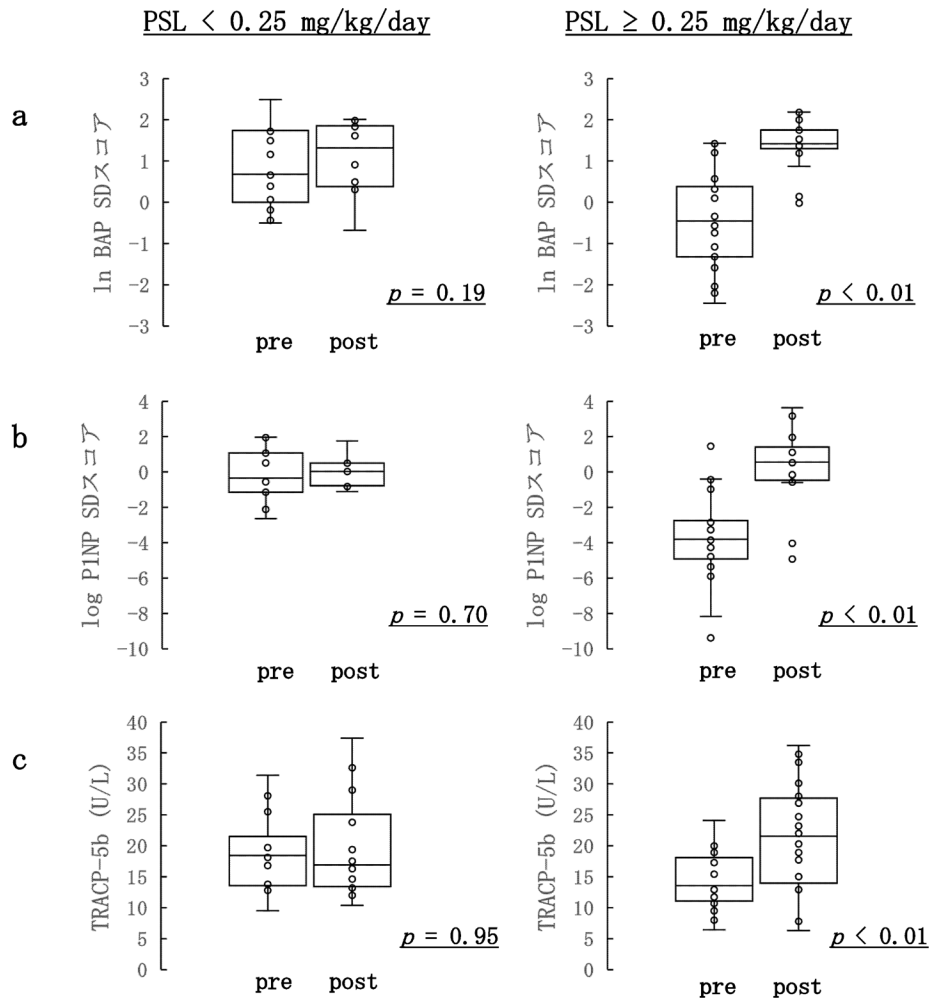


図 4 1日あたりステロイド投与量で層別化したステロイド中止前後の骨代謝マーカー変化

1日あたり PSL 0.25 mg/kg/day をカットオフとして層別化した ln BAP SD スコア (a)、log intact PINP SD スコア (b)、TRACP-5b (c) のステロイド中止前後の変化。pre: ステロイド投与下、post: ステロイド中止後。ln BAP SD スコアは 37 ペア、log intact PINP SD スコアは 33 ペア、TRACP-5b は 38 ペアで解析した。ステロイド投与下骨代謝マーカー (pre) については、1日あたり PSL 投与量が 0.25 mg/kg/day 未満の群と比較して 0.25 mg/kg/day 以上の群ではいずれの骨代謝マーカーも低値だった。1日あたり PSL 投与量が 0.25 mg/kg/day 未満ではステロイド中止前後の骨代謝マーカーに有意な変化はなく、1日あたり PSL 投与量が 0.25 mg/kg/day 以上ではすべての骨代謝マーカーがステロイド中止後に有意差をもって上昇していた。

略語: BAP, bone alkaline phosphatase; PINP, procollagen type 1 N-terminal propeptide; PSL, prednisolone; SD, standard deviation; TRACP-5b, tartrate-resistant acid phosphatase-5b

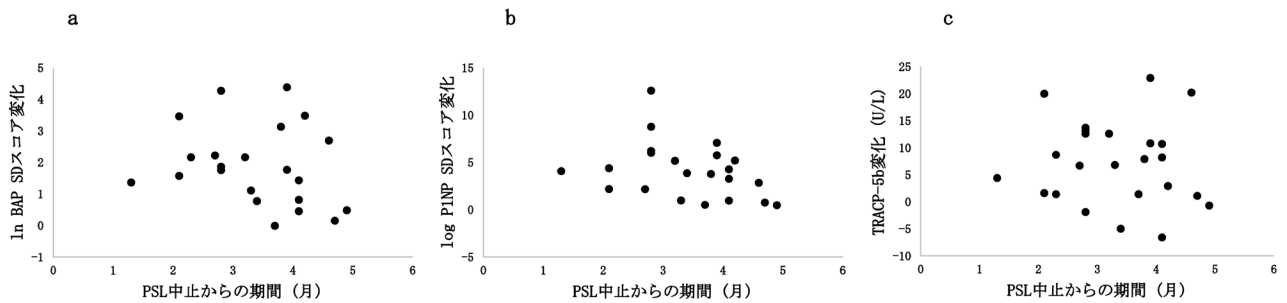


図 5 プレドニゾロン中止からステロイド中止後骨代謝マーカー測定までの期間と骨代謝マーカー変化との関連

1日あたり PSL 投与量が 0.25 mg/kg/day 以上のペアについて、PSL 中止からステロイド投与下骨代謝マーカー測定までの期間と ln BAP SD スコア (a)、log intact P1NP SD スコア (b)、TRACP-5b 値 (c) のステロイド中止後変化との関連。ln BAP SD スコアは 23 ペア、log intact P1NP SD スコアは 22 ペア、TRACP-5b は 24 ペアで解析した。PSL 中止からステロイド投与下骨代謝マーカー測定までの期間が 1.3 か月のペアでもすべての骨代謝マーカーがステロイド中止後に上昇していた (a、b、c いずれにおいても一番左の点)。

略語: BAP, bone alkaline phosphatase; P1NP, procollagen type 1 N-terminal propeptide; PSL, prednisolone; SD, standard deviation; TRACP-5b, tartrate-resistant acid phosphatase-5b

考察

本研究は、寛解維持目的でリツキシマブを投与され一時的にでもステロイドを中止できた小児期発症特発性ネフローゼ症候群患者においてステロイド投与下およびステロイド中止後の骨代謝マーカーについて後方視的に検討することで、長期間のステロイド投与が中止された後に骨代謝マーカーがどのように変化するかを調べたものである。本研究の結果から、長期間（ネフローゼ症候群の罹病期間中央値 5.9 年）のステロイド投与を中止した後、骨代謝の抑制は数か月程度までの間に解除されることが示唆された。また、1 日あたりのステロイド投与量が少なければステロイドによる骨代謝への影響が軽微である可能性も示唆された。

第一に、長期間のステロイド投与を中止した後、骨代謝の抑制は数か月程度までの間に解除されうる。本研究では小児ネフローゼ症候群患者において数年間に渡る長期間のステロイド投与後であっても、低下していた骨代謝マーカーがステロイド中止後に上昇しうることを示された。PSL 中止からステロイド中止後骨代謝マーカー測定までの期間は平均 3.5 か月で、この期間が 1.3 か月だったペアでもステロイド中止後に骨代謝マーカーの上昇がみられており、実際にはステロイド中止後のより早期に骨代謝が回復する可能性がある。本研究では長期間投与されたステロイドの中止から骨代謝回復までの最短期間については示すことができなかった。

骨代謝に影響を与える因子はステロイドだけではなく、年齢、性別、成長、思春期、運動、食事など、さまざまなものがあり (Vasikaran et al., 2011)、特に成長の著しい小児ではその解釈は難しい (Jürimäe, 2010)。本研究ではステロイド中止後の成長率増加を反映してステロイド中止後に身長 SD スコアの上昇がみられた。また、ネフローゼ症候群の再発コントロールが困難だった状況を反映してステロイド投与下では血清アルブミン値が低く、またやはり再発に関連すると推測されるが、ステロイド中止後ではステロイド投与下と比較して血清リン値が高く、血清 intact PTH 値が低かった。しかし、ステロイド投与下の 1 日あたり PSL 投与量がステロイド中止後の骨代謝マーカー変化と有意な相関を示したのに対し、身長 SD スコア、血清アルブミン値、血清リン値、血清 intact PTH 値の変化は骨代謝マーカーの変化と有意な相関を示さず、骨代謝マーカーの変化に対してはステロイド投与量がおもに寄与したことが示唆された。

本研究でみられたステロイド中止後の骨代謝マーカーの可逆性は、内因性ステロイドに長期間曝露される病態である Cushing 症候群の患者において術後数日から数週間以内に骨形成マーカーであるオステオカルシンが上昇したという報告 (Pocock et al., 1987, Szappanos et al., 2010) に矛盾しない。骨代謝

の抑制が解除されることが将来の骨密度や骨折リスクなどの臨床的アウトカムとどのように関連するかは今後の検討が待たれるが、骨のリモデリングに加え成長によるモデリングも活発な小児においては長期間のステロイド投与を受けていても骨代謝のすみやかな回復を期待して可能な時点でステロイドの減量、中止をはかることが妥当といえる。

第二に、1日あたりのステロイド投与量が少なければ骨代謝への影響は軽微な可能性がある。本研究では1日あたり PSL 投与量が 0.25 mg/kg/day 未満の群では、1日あたり PSL 投与量が 0.25 mg/kg/day 以上の群と比較してステロイド投与下骨代謝マーカーの低下が目立たず、またステロイド中止前後で骨代謝マーカーの有意な変化がみられなかった。1日あたりのステロイド投与量が少なければ骨代謝の抑制が弱かったといえる。少量のステロイド (PSL として平均 71 μ g/day) であっても骨折リスクが上昇することが報告されており (Vestergaard et al., 2003)、骨代謝の抑制が軽微であることが将来の骨折リスク低減につながるというエビデンスがあるわけではないが、少なくとも可能な限りステロイド投与量の減量を目指すことで骨代謝への悪影響を軽減できる可能性が示唆された。ただし閉経後女性では PSL 5 mg/day の投与でも骨形成マーカーが低下したという報告があり (Ton et al., 2005)、ステロイドに対する骨代謝の反応性は小児と成人で異なる可能性がある。

成人では、骨代謝マーカーは骨粗鬆症治療への反応のモニタリングとして臨床応用されており、ある程度までは骨折リスクの予測にも有用とされる (Vasikaran et al., 2011)。小児においては成人と異なりステロイド性骨粗鬆症に対して積極的な治療が行われることが少なく、また成長、思春期などが骨代謝に影響を与えるため骨代謝マーカーの評価が難しいという側面もあり (Jürimäe, 2010, Bowden et al., 2016)、骨代謝マーカーの臨床応用は進んでいない。しかし、近年、小児ステロイド性骨粗鬆症に対する治療としてビスホスホネート製剤についての有用性、安全性についての報告が増えてきており今後治療の選択肢となる可能性があり (Ward, 2020)、また抗 receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand 抗体、組み換えヒト PTH 製剤、抗スクレロスチン抗体などの新規骨粗鬆症治療薬の登場もあり (Ward, 2020)、臨床試験段階やあるいは実地臨床における治療効果のモニタリングとして、小児領域においても骨代謝マーカーが活用される可能性がある。臨床応用をみすえて、本研究で検討したステロイドと骨代謝マーカーの関係のように小児における骨代謝マーカーに関する基礎的データの蓄積が望まれる。

本研究にはいくつかの限界がある。第一に、少数患者についての後方視的研究であり、情報バイアス、選択バイアスなどのバイアスが働いた可能性は否定できない。後方視的研究のため骨代謝に影響を与える思春期ステージ、カルシウム

やビタミン D 摂取量、血清 25-OH ビタミン D の評価ができなかった。第二に、ステロイドの投与量については骨代謝マーカー測定時の 1 日あたり PSL 投与量のみでの評価であり、ステロイドの累積投与量、ある期間での平均投与量などの評価はできなかった。ネフローゼ症候群の再発状況により PSL の増量、漸減の経過が患者ごとに多様だったため、各患者で比較しやすい一時点での 1 日あたり PSL 投与量の評価に用いたが、骨代謝マーカーへのステロイドの影響を評価するのにこの方法が妥当なのかどうかはわからない。第三に、日本人小児での基準値が報告されていないため、本研究では骨代謝マーカーをヨーロッパの小児データを用いて標準化した (Rauchenzauner et al., 2007, Crofton et al., 2004)。これらのヨーロッパ人小児のデータはこれまで十分に妥当性を検証されたわけではなく、また異なる人種である日本人小児のデータが適用できるのかは不明である。しかし、今回は性別、年齢、成長が骨代謝マーカーに与える影響を調整する試みとしてこれらのデータを用いて標準化を行った。

ネフローゼ症候群ではサイトカインの上昇が報告されてはいるが (Araya et al., 2006)、顕著な全身性炎症を伴わないことからリウマチ性疾患や炎症性腸疾患と比較してステロイドの骨への影響を評価しやすいモデルと考えられている (Leonard, 2007)。ネフローゼ症候群におけるステロイド投与と骨代謝マーカー変化の関連を含む、小児における骨代謝マーカーについての知見の集積が望まれる。

結論

①本研究全体から得られた新知見

寛解維持目的でリツキシマブを投与され少なくとも一時的にステロイドを中止できた小児期発症特発性ネフローゼ症候群患者において、ステロイド投与下およびステロイド中止後の骨代謝マーカーの変化に関して後方視的に検討した結果、長期間（ネフローゼ症候群の罹病期間中央値 5.9 年）のステロイド投与が中止された後、骨代謝の抑制は数か月程度までの間に解除されることが示唆された。また 1 日あたりのステロイド投与量が少なければ、ステロイドによる骨代謝への影響が軽微である可能性も示唆された。

②新知見の意義

これまで短期間のステロイド投与後にステロイドを中止した際、骨代謝マーカーが比較的すみやかに回復することは報告されていたが、年単位の長期間のステロイド投与後にステロイドを中止した際、骨代謝マーカーがどのような挙動をとるかは報告がなかった。今後小児においても新規骨粗鬆症治療薬の臨床応用が広がる可能性があり、臨床試験や治療モニタリングにおいて小児における骨代謝マーカーについての基礎的データの集積が必要とされる中で、意義のある知見といえる。

③本研究で得られた新知見から今後どのような研究が展開されうるか

ステロイドで抑制されていた骨代謝マーカーがステロイド中止後に回復することと、将来の骨密度や骨折リスクなどの臨床的アウトカムとがどのように関連するのか、小児期から成人にかけての長期的なコホート研究の展開が考えられる。

④今後の課題

骨代謝に影響を与える因子はステロイド以外に、性別、年齢、成長、思春期、運動、食事、など多岐に渡るため、ステロイド投与と骨代謝マーカーの推移に関する研究ではこれら因子の影響をどのように調整するかが課題である。後方視的研究ではしばしばその調整は困難であり、骨代謝マーカーに関する良質なエビデンスを構築するには患者条件、骨代謝マーカーの採取条件などを均一化した前向きコホート研究が望まれる。

謝辞

本研究を行う機会を与えていただくとともに、研究期間中に多大なるご支援とご指導をいただきました、真部淳先生（北海道大学大学院医学研究院生殖・発達医学分野小児科学教室、教授）、岡本孝之先生（北海道大学病院小児科、診療講師）に心より深謝いたします。

利益相反

開示すべき利益相反状態はない。

引用文献

- Aceto, G., D'Addato, O., Messina, G., Carbone, V., Cavallo, L., Brunetti, G., and Faienza, M. F. (2014). Bone health in children and adolescents with steroid-sensitive nephrotic syndrome assessed by DXA and QUS. *Pediatr. Nephrol.* *29*, 2147-2155.
- Ahmed, S. F., Tucker, P., Mushtaq, T., Wallace, A. M., Williams, D. M., and Hughes, I. A. (2002). Short-term effects on linear growth and bone turnover in children randomized to receive prednisolone or dexamethasone. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* *57*, 185-191.
- Araya, C. E., Wasserfall, C. H., Brusko, T. M., Mu, W., Segal, M. S., Johnson, R. J., and Garin, E. H. (2006). A case of unfulfilled expectations. Cytokines in idiopathic minimal lesion nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* *21*, 603-610.
- Bath, L. F., Crofton, P. M., Evans, A. E., Ranke, M. B., Elmlinger, M. W., Kelnar, C. J., and Wallace, W. H. (2004). Bone turnover and growth during and after chemotherapy in children with solid tumors. *Pediatr. Res.* *55*, 224-230.
- Biyikli, N. K., Emre, S., Sirin, A., and Bilge, I. (2004). Biochemical bone markers in nephrotic children. *Pediatr. Nephrol.* *19*, 869-873.
- Bornefalk, E., Dahlén, I., Michaëlsson, K., Ljunggren, Ö., and Ljunghall, S. (1998). Age-dependent effect of oral glucocorticoids on markers of bone resorption in patients with acute asthma. *Calcif. Tissue Int.* *63*, 9-13.
- Bowden, S. A., Akusoba, C. I., Hayes, J. R., and Mahan, J. D. (2016). Biochemical markers of bone turnover in children with clinical bone fragility. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* *29*, 715-722.
- Brabnikova Maresova, K., Pavelka, K., and Stepan, J. J. (2013). Acute effects of glucocorticoids on serum markers of osteoclasts, osteoblasts, and osteocytes. *Calcif. Tissue Int.* *92*, 354-361.
- Chotiyarnwong, P., and McCloskey, E. V. (2020). Pathogenesis of glucocorticoid-induced osteoporosis and options for treatment. *Nat. Rev. Endocrinol.* *16*, 437-447.
- Compston, J. (2018). Glucocorticoid-induced osteoporosis: an update. *Endocrine* *61*, 7-16.
- Crofton, P. M., Ahmed, S. F., Wade, J. C., Stephen, R., Elmlinger, M.

- W., Ranke, M. B., Kelnar, C. J., and Wallace, W. H. (1998). Effects of intensive chemotherapy on bone and collagen turnover and the growth hormone axis in children with acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *83*, 3121-3129.
- Crofton, P. M., Evans, N., Taylor, M. R., and Holland, C. V. (2004). Procollagen type I amino-terminal propeptide: pediatric reference data and relationship with procollagen type I carboxyl-terminal propeptide. *Clin. Chem.* *50*, 2173-2176.
- Dovio, A., Perazzolo, L., Osella, G., Ventura, M., Termine, A., Milano, E., Bertolotto, A., and Angeli, A. (2004). Immediate fall of bone formation and transient increase of bone resorption in the course of high-dose, short-term glucocorticoid therapy in young patients with multiple sclerosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *89*, 4923-4928.
- Godschalk, M. F., and Downs, R. W. (1988). Effect of short-term glucocorticoids on serum osteocalcin in healthy young men. *J. Bone Miner. Res.* *3*, 113-115.
- Iijima, K., Sako, M., Nozu, K., Mori, R., Tuchida, N., Kamei, K., Miura, K., Aya, K., Nakanishi, K., Ohtomo, Y., et al. (2014). Rituximab for childhood-onset, complicated, frequently relapsing nephrotic syndrome or steroid-dependent nephrotic syndrome: a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *The Lancet* *384*, 1273-1281.
- Isojima, T., Kato, N., Ito, Y., Kanzaki, S., and Murata, M. (2016). Growth standard charts for Japanese children with mean and standard deviation (SD) values based on the year 2000 national survey. *Clin. Pediatr. Endocrinol.* *25*, 71-76.
- Jürimäe, J. (2010). Interpretation and application of bone turnover markers in children and adolescents. *Curr. Opin. Pediatr.* *22*, 494-500.
- Kamei, K., Ishikura, K., Sako, M., Aya, K., Tanaka, R., Nozu, K., Kaito, H., Nakanishi, K., Ohtomo, Y., Miura, K., et al. (2017). Long-term outcome of childhood-onset complicated nephrotic syndrome after a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled trial of rituximab. *Pediatr. Nephrol.* *32*, 2071-2078.
- Kato, N., Takimoto, H., and Sudo, N. (2011). The cubic functions for spline smoothed L, S and M values for BMI reference data of

- Japanese children. *Clin. Pediatr. Endocrinol.* *20*, 47-49.
- Leonard, M. B. (2007). Glucocorticoid-induced osteoporosis in children: impact of the underlying disease. *Pediatrics* *119 Suppl 2*, S166-174.
- Lips, P., and van Schoor, N. M. (2011). The effect of vitamin D on bone and osteoporosis. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* *25*, 585-591.
- Paglia, F., Dionisi, S., De Geronimo, S., Rosso, R., Romagnoli, E., Raejntroph, N., Ragno, A., Celi, M., Pepe, J., D'Erasmus, E., et al. (2001). Biomarkers of bone turnover after a short period of steroid therapy in elderly men. *Clin. Chem.* *47*, 1314-1316.
- Pocock, N. A., Eisman, J. A., Dunstan, C. R., Evans, R. A., Thomas, D. H., and Huq, N. L. (1987). Recovery from steroid-induced osteoporosis. *Ann. Intern. Med.* *107*, 319-323.
- Rauchenzauner, M., Schmid, A., Heinz-Erian, P., Kapelari, K., Falkensammer, G., Griesmacher, A., Finkenstedt, G., and Högl, W. (2007). Sex- and age-specific reference curves for serum markers of bone turnover in healthy children from 2 months to 18 years. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *92*, 443-449.
- Szappanos, A., Toke, J., Lippai, D., Patócs, A., Igaz, P., Szücs, N., Fűto, L., Gláz, E., Rácz, K., and Tóth, M. (2010). Bone turnover in patients with endogenous Cushing's syndrome before and after successful treatment. *Osteoporos. Int.* *21*, 637-645.
- Takahashi, T., Okamoto, T., Sato, Y., Hayashi, A., Ueda, Y., and Ariga, T. (2020). Glucose metabolism disorders in children with refractory nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* *35*, 649-657.
- Takahashi, T., Okamoto, T., Sato, Y., Yamazaki, T., Hayashi, A., Aoyagi, H., Ueno, M., Kobayashi, N., Uetake, K., Nakanishi, M., et al. (2019). Periodically repeated rituximab administrations in children with refractory nephrotic syndrome: 2-year multicenter observational study. *Pediatr. Nephrol.* *34*, 87-96.
- Takahashi, T., Okamoto, T., Yokota, I., Sato, Y., Hayashi, A., Ueda, Y., Aoyagi, H., Ueno, M., Kobayashi, N., Uetake, K., et al. (2022). The effect of rituximab on the quality of life of children with refractory nephrotic syndrome. *Pediatr. Int.* *64*, e14725.
- Tarshish, P., Tobin, J. N., Bernstein, J., and Edelman, C. M., JR.

- (1997). Prognostic significance of the early course of minimal change nephrotic syndrome: report of the International Study of Kidney Disease in Children. *J. Am. Soc. Nephrol.* *8*, 769-776.
- Ton, F. N., Gunawardene, S. C., Lee, H., and Neer, R. M. (2005). Effects of low-dose prednisone on bone metabolism. *J. Bone Miner. Res.* *20*, 464-470.
- Uemura, O., Nagai, T., Ishikura, K., Ito, S., Hataya, H., Gotoh, Y., Fujita, N., Akioka, Y., Kaneko, T., and Honda, M. (2014). Creatinine-based equation to estimate the glomerular filtration rate in Japanese children and adolescents with chronic kidney disease. *Clin. Exp. Nephrol.* *18*, 626-633.
- Vasikaran, S., Eastell, R., Bruyère, O., Foldes, A. J., Garnero, P., Griesmacher, A., McClung, M., Morris, H. A., Silverman, S., Trenti, T., et al. (2011). Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. *Osteoporos. Int.* *22*, 391-420.
- Vestergaard, P., Olsen, M. L., Paaske Johnsen, S., Rejnmark, L., Sørensen, H. T., and Mosekilde, L. (2003). Corticosteroid use and risk of hip fracture: a population-based case-control study in Denmark. *J. Intern. Med.* *254*, 486-493.
- Vihinen, M. K., Kolho, K. L., Ashorn, M., Verkasalo, M., and Raivio, T. (2008). Bone turnover and metabolism in paediatric patients with inflammatory bowel disease treated with systemic glucocorticoids. *Eur. J. Endocrinol.* *159*, 693-698.
- Ward, L. M. (2020). Glucocorticoid-induced osteoporosis: Why kids are different. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* *11*, 576.
- Weinstein, R. S., Jilka, R. L., Parfitt, A. M., and Manolagas, S. C. (1998). Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects on bone. *J. Clin. Invest.* *102*, 274-282.
- Wolthers, O. D., Riis, B. J., and Pedersen, S. (1993). Bone turnover in asthmatic children treated with oral prednisolone or inhaled budesonide. *Pediatr. Pulmonol.* *16*, 341-346.