

学位論文題名

C型慢性肝炎患者におけるリバビリン単独投与による
血球系の変化に関する研究

学位論文内容の要旨

【背景と目的】 C型肝炎ウイルス (HCV) 感染患者は全世界に1億6千万人と推定され、感染患者の70~80%が慢性持続感染を引き起こし、肝硬変、肝細胞癌へと進展する。2011年まで難治性とされるHCVジェノタイプ1b高ウイルス量症例の標準治療はペグインターフェロン・リバビリン併用療法であり、治療導入例のウイルス学的著効率は約50%であった。2009年ペグインターフェロン・リバビリン併用療法の治療効果と宿主の*IL28B*遺伝子多型が関連することが報告された。翌2010年には併用療法中の貧血に関連する遺伝子多型として、*ITPA*遺伝子多型が報告された。また2011年*ITPA*遺伝子多型と同様に、*DDRGK1*遺伝子多型が二剤併用治療中の貧血に関連し、また血小板減少にも関連していると報告された。しかしながら二剤併用療法が標準治療である昨今、リバビリン単独投与中の血球系の変動と*ITPA*遺伝子多型の関連についての報告はない。今回我々は4週間のリバビリン単独期間中の血球系の変動、*ITPA*遺伝子多型、造血ホルモンとの関連性について検討したため、報告する。

【対象と方法】対象は当院で4週間リバビリン単独先行投与を行った慢性C型肝炎患者30名。リバビリン投与量は原則的に添付文書に記載された通り、体重に準じて決定した。(60kg未満のとき600mg/日、60kg以上、80kg未満のとき800mg/日、80kg以上の時1000mg/日)毎週採血にて末梢血、生化学、EPO、TPO値を測定した。*ITPA*遺伝子多型としてrs11275354、*IL28B*遺伝子多型としてrs8099917をTaqMan法で測定した。

【結果】リバビリン単独投与中にヘモグロビン値中央値は有意に減少した(開始時13.6 g/dl [10.5-16.6 g/dl]、4週目11.7 g/dl [9.4-14.9 g/dl], $p<0.001$)。血小板値は有意に増加した(開始時 $14.0 \times 10^4/\text{mm}^3$ [8.9-37.4 $\times 10^4/\text{mm}^3$]、4週目 $15.8 \times 10^4/\text{mm}^3$ [10.2-40.6 $\times 10^4/\text{mm}^3$], $p=0.003$)。ALT中央値、血中HCV-RNA量は有意に減少した。*ITPA* CCアレルの患者は23例、AC/AAアレルの患者は7例であった。リバビリン単独投与開始2週目、4週目における、*ITPA* CCアレルの患者のヘモグロビン値はAC/AAアレルの患者と比較し、有意に低値を示した(治療開始2週目12.2 g/dl [9.8-15.9 g/dl] vs 13.2 g/dl [12.4-15.1 g/dl], $p=0.07$ 、治療開始4週目11.1 g/dl [9.4-13.5 g/dl] vs 12.9 g/dl [12.5-14.9 g/dl], $p=0.001$)。血小板に関しては特に*ITPA*遺伝子多型と有意な関連性を認めなかった。2週目のヘモグロビン値と2週間のEPO増加量($r=-0.758, p=0.003$)、4週目のヘモグロビン値と4週目のEPO増加量($r=-0.622, p=0.004$)には有意な相関を認めた。4週間の血小板変化率は4週間のEPO増加

量は有意ではなかったが、 $r=0.426$, $p=0.056$ と相関する傾向が認められたが、TPO 濃度とは特に有意な相関関係は認めなかった。次に貧経過中にヘモグロビン減少量の中央値である 2.1g/dl 以上低下した時を貧血群とし、それ以外を非貧血群として血小板と造血ホルモンとの相関について検討した。

貧血群において全例 ($n=15$) *ITPA* 遺伝子多型は CC アレルであったのに対して、非貧血群 ($n=15$) では *ITPA* CC アレルは 8 例、AC/AA アレルは 7 例であった。貧血群では、血小板数は有意に増多したが ($p=0.001$)、非貧血群では特に変化しなかった。4 週間の血小板変化率と血清 EPO 濃度は貧血群においては $r=0.88$, $p=0.002$ と有意な相関関係を認めたが、非貧血群においては有意な関連性は認めなかった ($r=0.39$, $p=0.27$)。

次に血小板の増加率を中央値の 1.05 で 2 群に分け、血小板増多に関連する因子について検討した。血小板増多群ではより若年である傾向を認めた ($p=0.062$)。さらに、貧血を認めない患者において血小板増多に寄与する因子について解析した結果、若年 (48 years-old [31-56 years-old] vs 61 years-old [54-71 years-old], $p<0.001$)、リバビリン投与開始時の血小板数が高い傾向を認めた ($17.1 \times 10^4/\text{mm}^3$ [9.1-37.1 $\times 10^4/\text{mm}^3$] vs $12.4 \times 10^4/\text{mm}^3$ [8.9-15.5 $\times 10^4/\text{mm}^3$])。肝線維化に関しては、肝線維化に関して有意な因子ではなかった。

【考察】*ITPA* 欠損は、赤血球中に ITP が蓄積し、リバビリン三リン酸と競合することで溶血性貧血を防ぐと考えられ、*ITPA* 遺伝子多型がリバビリンによる貧血に関与していることはこれまでの提唱されてきた仮説を支持するものである。しかしながら、これまでの *ITPA* 遺伝子多型と治療による貧血との関連性は、ペグインターフェロン併用時の検討であり、リバビリン単独投与との関連性を示した報告はない。ペグインターフェロン併用の場合には、少なからずインターフェロンの骨髄抑制作用などの影響も受けているものと考えられ、リバビリンによる血球系の変化を検討するのに適切とはいえない。今回初めてリバビリンによる貧血と *ITPA* 遺伝子多型との関連性が示された。

今回の研究においてリバビリン単独投与期間中に相対的な血小板増多を認めた。ペグインターフェロン・リバビリン併用治療中に血小板は減少することはよく知られているが、そのほとんどはペグインターフェロンによる影響である。しかしインターフェロン・リバビリン併用療法はインターフェロン単独治療を比較し、血小板減少が軽度となるという報告があり、またアカゲザルにおけるリバビリン単独投与中の貧血、血小板増多、骨髄内の巨核球増多の報告からリバビリン単独投与にても血小板へ影響を示唆されることから、リバビリンがインターフェロンの血小板減少作用を緩和していると考えられる。これまでにも、EPO 製剤投与後の相対的血小板増多や血小板機能活性化について報告されており、その機序として EPO と TPO の相同性があるため EPO が TPO と同様に機能していると考察されている。以上の結果より今回我々はリバビリン単独投与期間中における EPO と血小板の相関関係を認めたことから、リバビリン投与によって貧血が進行し、その結果内因性の EPO 産生が亢進し、血小板増多するものと推測した。

【結論】*ITPA* 遺伝子多型はリバビリン単独投与期間中の貧血と関連していた。リバビリン単独投与期間中に血小板増多が認められ、機序としてリバビリンによる貧血から内因性 EPO が分泌され、血小板増多に関与している可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 准教授 神 山 俊 哉
副 査 教 授 坂 本 直 哉
副 査 教 授 三 輪 聡 一
副 査 教 授 豊 嶋 崇 徳

学位論文題名

C型慢性肝炎患者におけるリバビリン単独投与による 血球系の変化に関する研究

C 型慢性肝炎の治療は現在ペグインターフェロン・リバビリン併用療法が中心であり、著効率向上のためには、薬剤の副作用のコントロールが重要である。2010 年治療期間中の貧血と関連する遺伝子多型として *ITPA* 遺伝子領域の一塩基多型が報告された。二剤併用療法が標準治療である今日においてリバビリン単独投与中の血球系の変動と *ITPA* 遺伝子多型の関連についての報告はなく、申請者はリバビリンによる血球動態を明らかにするために、リバビリン単独期間を行った慢性 C 型肝炎患者 30 症例の期間中の血球系の変動、*ITPA* 遺伝子多型、造血ホルモンとの関連性について検討した。リバビリン単独投与期間中にヘモグロビンは有意に減少、血小板は有意に増多を示した。*ITPA* CC アレルの患者は AC/AA アレルの患者と比較し、有意に貧血が進行した。血小板数に関しては特に *ITPA* 遺伝子多型と有意な関連性を認めなかったが、*ITPA* CC アレルの患者において増多していた。期間中 EPO は有意に上昇し、TPO は特に有意な変動を示さなかった。4 週間の血小板変化率は 4 週間の EPO 増加量に有意な相関関係を認めたが、TPO 濃度とは特に有意な相関関係は認めなかった。ヘモグロビン減少量の中央値である 2.1g/dl で 2 群に分け、貧血進行群と非貧血進行群における血小板と EPO との相関関係を検討したところ、貧血進行群においてのみ血小板と EPO に正の相関関係を認めた。今回初めてリバビリンによる貧血と *ITPA* 遺伝子多型との関連性が示された。

審査会において、三輪教授より、赤血球内にリバビリン三リン酸が蓄積するとなぜ酸化ストレスを引き起こし溶血するのか、また *ITPA* 遺伝子多型により異なる赤血球内 ITP 濃度の違いがリバビリンによる貧血と関連していることが妥当であることについて質問があった。発表者より、紹介した仮説においては基礎研究で示されたデータはなく、仮説の域を超えない。しかしながら、これまで *ITPA* 遺伝子多型とリバビリンによる貧血が直接的に関連していることが示され、これまでの仮説とは矛盾しないものであったと答えた。

豊嶋教授より血小板増多に関しては、貧血の結果、内因性の EPO が増多し、EPO が血小板増多と関連していたと考察しているが、その他の血小板増多に関連する因子として、TGF や IL-4 なども報告があり、EPO のみが関連しているとは言えないのではないかと質問があった。今回は

血小板増多にかかわるサイトカインに関して網羅的に検討はしていないが、代表的な IL-6 に関しては、リバビリン単独投与中の血小板増多と関連していなかったと回答した。また過去に EPO 投与により血小板数が増多したとの報告があること、また EPO と TPO はアミノ酸レベルでの相同性があるとの報告があり、EPO が血小板へ影響したと考察したと説明した。また本研究の今後の展望について質問があった。現在新規抗 HCV 治療薬が続々と開発中であり、インターフェロンを併用しないレジメンも治験が進行中である。しかし今後もリバビリン併用が必要となる薬剤もあり、薬剤投与率を保つためにはリバビリンの副作用の発現パターンを熟知する必要があり、本研究が参考となると説明した。

神山准教授より本研究の臨床的な意義についての質問があった。リバビリンは原則インターフェロン併用で使用され、これまでリバビリン単独投与期間中の血球動態の報告はなく、また ITPA 遺伝子多型との関連性を示したものはなく、今回初めて報告した。またリバビリンの血球系の副作用は薬剤の減量、中止と深く関わっており、治療成績とも直結することから、リバビリン投与中の血球動態を予測することができれば、予め副作用を軽減するための対策を立てることができ、結果治療成績を改善させることができると答えた。またさらに多くの患者を集めると、リバビリンの血球系の作用がさらに明らかになるのでは、との問いに関して、現在ではインターフェロン併用が原則となることから、今後はインターフェロンによる影響も加わり、解析は容易ではないと回答した。

この論文は *Journal of Gastroenterology* に掲載され、今後の慢性 C 型肝炎患者における治療成績改善や新規抗 HCV 治療薬登場後もリバビリン併用時の副作用軽減が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども合わせ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。