

【14】

氏 名	白 橋 亮 作 しら はし りょう さく
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第779号
学位授与の日付	令和3年3月3日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項 (先端内科学)
学位論文題目	Hypo zincemia in chronic hepatitis C is improved with viral clearance by direct-acting antiviral agents (直接作用型抗ウイルス薬によるC型肝炎患者の低亜鉛血症改善に寄与する因子の検討)
論文審査委員	(主査) 教授 齋 藤 登 (副査) 教授 入 澤 篤 志 教授 吉 富 秀 幸

論 文 内 容 の 要 旨

【背 景】

C型慢性肝炎患者は血清亜鉛値が低下しており、肝機能改善のため亜鉛製剤を必要とすることが多い。我々は、直接作用型抗ウイルス薬（Direct-Acting Antiviral Agents : DAAs）によって亜鉛製剤を用いずに低亜鉛血症が改善することを報告した。

【目 的】

C型肝炎患者へのDAAs治療によって改善する血清亜鉛が、どのように関わっているかを前向き試験にて検討した。

【対象と方法】

本研究は獨協医科大学埼玉医療センター倫理委員会の承認を得て、指針に従って行った。

2018年3月から2019年2月までに当院でDAAs治療を行った53例を対象とした。亜鉛製剤を使用している例、20g/日の飲酒歴のある例、肝細胞癌を有する例、糖尿病治療目的の食事制限を行っている例は除外した。血清亜鉛値はDAAs治療前、治療終了後、治療終了12週後の早朝にそれぞれ測定し、治療前と治療終了12週後の血清亜鉛値の差を Δ Zinc (Δ Zn) とした。本検討では、DAAs治療前の血清亜鉛値 $80 \mu\text{g/dL}$ 未満群を亜鉛欠乏群、 $80 \mu\text{g/dL}$ 以上を亜鉛正常群とした。血清亜鉛測定と同時にalanine aminotransferase (ALT)、 γ -glutamyltransferase (GGT)、total bilirubin (T-Bil)、serum albumin (Alb)、white blood cells (WBCs)、hemoglobin (Hb)、platelets (Plts)、prothrombin activity (PT%)、 α -fetoprotein (AFP) を測定した。加えてaspartate aminotransferase (AST)、

ALT、Plts、年齢から算出されるFIB-4 indexを測定した。また、ALT、GGT、Alb、Plts、AFP、FIB-4 indexの治療前と治療終了12週時の差を、それぞれ Δ ALT、 Δ GGT、 Δ Plts、 Δ AFP、 Δ FIB-4 indexとし、 Δ Znとの関連性を検討した。血清亜鉛値を含めそれぞれのパラメータは平均 \pm 標準偏差として表した。両群の治療開始前と治療開始後の比較にはウィルコクソン検定とカイ二乗検定を用い、 $P < 0.05$ を有意差ありと判断した。

【結 果】

53例の治療前血清亜鉛値の平均は $70.4 \pm 12.0 \mu\text{g/dL}$ であった。亜鉛欠乏群は43例、正常群は10例であった。血清Alb、WBCs、Pltsは亜鉛欠乏群で低く、FIB-4 indexは亜鉛欠乏群で高値であった。Hb、PT%は亜鉛欠乏群で低い傾向に、ALTは亜鉛欠乏群で高い傾向にあったがいずれも有意差は認めなかった。亜鉛正常群では治療前後の血清亜鉛値の有意差を認めなかったが、亜鉛欠乏群では治療前と治療終了後、治療終了12週後と有意差を持って上昇していた。治療前、治療終了12週時の間でALT、GGT、AFP、FIB-4 indexは著明に減少している一方でAlb、Pltsは上昇していた。PT%は上昇傾向にあったが有意差は認めなかった。 Δ Znは Δ Albと強い正の相関を示し、 Δ Pltsと Δ FIB-4 indexには弱い正の相関を認めていた。 Δ Znを説明変数とし、 Δ ALT、 Δ GGT、 Δ Alb、 Δ Plts、 Δ AFP、 Δ FIB-4 indexを目的変数とした多変量解析を行った結果、 Δ Albのみが寄与する因子として特定された。

【考 察】

亜鉛は肉、穀物、豆類、乳製品など様々な食物に含まれている元素の一つであり、生体において成長や発達の要として蛋白質合成や代謝などの生命維持に関係する重要な微量元素である。成人の体に含まれる亜鉛の量は $1.5\text{g} \sim 3\text{g}$ であり、体内では様々な臓器に広く分布している。血中では60%がアルブミンに、30%がマクログロブリンに結合しており、慢性肝疾患患者では窒素代謝異常、特に低アルブミン血症によって血清亜鉛が低値を示すとされる。

本研究では日本臨床栄養学会（JSCN）の分類を用いて対象を亜鉛正常群と亜鉛欠乏群の二群に分けて解析を行った。治療前のC型肝炎患者の53例中43例（81.1%）に亜鉛欠乏を認めた。亜鉛低下群では亜鉛正常群に比して血清アルブミンが低値であり、血小板が低く、FIB-4 indexが高値を呈した。これらの事実から、C型肝炎患者の亜鉛欠乏は、肝の線維化進行に伴うアルブミン合成能の低下によるものと考えた。

亜鉛欠乏群の血清亜鉛は、8-12週のDAAs治療によって速やかに改善した。また、DAAs治療によって血小板は有意に増加し、ALT、GGT、AFP、FIB-4 indexは低下した。C型肝炎の組織学的な線維化はDAAs治療後の早期には改善しないこと、一方で組織学的な炎症の改善は治療後早期から認められることが報告されており、亜鉛の上昇には肝炎の沈静化が寄与するかもしれないと考えた。しかし、亜鉛の改善と炎症改善に関与する Δ ALT、 Δ GGT、 Δ AFPに相関を認められなかった。一方で Δ Znと Δ Albは強い正の相関を示した。

Δ Znを目的変数とし Δ ALT、 Δ GGT、 Δ Alb、 Δ Plts、 Δ AFP、 Δ FIB-4 Indexを説明変数とした重回帰分析を行ったところ、 Δ Albのみに有意差が得られた。前述のように血清亜鉛の60%はアルブ

ミンと結合している。DAAs治療によって肝炎が沈静化し、肝の合成能が回復したため移送蛋白であるアルブミンが上昇し、結果として血清亜鉛値が改善したものと推測される。

Δ Znは Δ Albのみならず、 Δ Pltsとも正の相関を呈した。この明確な理由は不明だが、血小板には $0.48\text{ng}/10^6\text{cells}$ の亜鉛が含有されており、亜鉛の3%が白血球と血小板に存在するとされるため、血小板由来の亜鉛を測定していた可能性が考えられる。

本研究に先んじて報告した著者らの研究では、血清アルブミンの上昇に先んじて血清亜鉛の上昇を認めている。この事実は移送蛋白であるアルブミンの上昇以外にも血清亜鉛を改善させる因子が存在することを示唆している。C型肝炎ウイルスの存在自体は血清亜鉛レベルに直接的な影響を及ぼさないと報告されている。血清亜鉛レベルの低下のメカニズムには、C型肝炎ウイルスの非構造蛋白質であるNS3およびNS5Aが関与していると推測される。NS3は亜鉛含有酵素で、NS5Aは亜鉛金属タンパク質である。DAAs治療はこれらのC型肝炎非構造蛋白の機能を抑制することにより、ウイルス増殖を抑制する。これらの事実が治療後の血清亜鉛に影響を与えるのかもしれない。

【結 論】

C型肝炎患者の低亜鉛血症は、DAAs治療により亜鉛製剤投与なしで短期間に改善する。亜鉛の上昇は移送蛋白であるアルブミンの上昇に起因するものと推測された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

【論文概要】

C型肝炎患者では疾患の進展に伴って血清亜鉛が低下する。申請者らは先行する臨床研究として、直接作用型抗ウイルス薬（Direct-Acting Antiviral Agents：DAAs）治療により、C型肝炎患者の低亜鉛血症が改善することを世界に先駆け報告している。申請論文は、この際の低亜鉛血症の改善に寄与する因子について前向きに検討した報告である。

2018年3月から2019年2月までにDAAs治療を行った53例を対象とし、全例で治療終了12週後のC型肝炎ウイルスRNAの陰性を確認している。血清亜鉛値はDAAs治療前、治療終了後、治療終了12週後の早朝空腹時に測定し、同時に測定したALT、GGT、Alb、Plts、AFP、FIB-4 indexを臨床パラメータとして検討に用いている。また、日本臨床栄養学会（JSCN）の定義に従い、治療前の血清亜鉛値 $80\mu\text{g}/\text{dL}$ 未満群を亜鉛欠乏群、 $80\mu\text{g}/\text{dL}$ 以上を亜鉛正常群として検討を行っている。

DAAs治療前から治療終了後12週までの血清亜鉛値は、10例の治療前亜鉛正常群は変化がなく、43例の治療前亜鉛欠乏群では経時的に有意な上昇を認めたとしている。さらに、全53例について、亜鉛と同時に測定した各臨床パラメータと血清亜鉛の変化量を重回帰分析した結果、DAAs治療によるC型肝炎患者の低亜鉛血症改善は、移送蛋白であるアルブミンの上昇に起因するものと結論付けている。

【研究方法の妥当性】

申請論文では、DAAs治療を行いウイルス学的著効が得られたC型肝炎患者53例という豊富な症例を用い、血清亜鉛値と標準的な臨床パラメータとの関連を検討している。申請論文は、獨協医科大学

埼玉医療センター倫理委員会の承認を得て、指針に従い行われている。対象は亜鉛正常群、亜鉛欠乏群と適切に設定され、客観的な統計解析を行っており、本研究は妥当なものである。

【研究結果の新奇性・独創性】

C型肝炎患者では亜鉛欠乏を来たすことが知られている。申請論文では、DAAs治療を行う事で亜鉛補充をせずとも亜鉛が改善することに加え、臨床パラメータとの詳細な解析を行ったところ、アルブミンの変化量が血清亜鉛改善に寄与する因子であることを世界に先駆けて明らかにしている。この点において申請論文は新奇性・独創性に優れた研究と評価できる。

【結論の妥当性】

申請論文では、適切な対象群の設定の下、客観的な統計解析を用いて、C型肝炎患者の亜鉛欠乏は、肝の線維化進行に伴うアルブミン合成能の低下によるものと推測しており、さらに低亜鉛血症の改善は移送蛋白であるアルブミンの上昇に起因しているもの結論付けている。これらの結論は論理的に矛盾するものではなく、また肝臓病学、ウイルス学など関連領域における知見を踏まえても妥当なものである。

【当該分野における位置付け】

申請論文では、C型肝炎と亜鉛欠乏との関連を探求しようと試み、その結果、C型肝炎患者の低亜鉛血症はDAAs治療によって速やかに改善すること、低亜鉛血症の改善にはアルブミンの変化量が寄与していることを明らかにした。一般的に慢性肝疾患における亜鉛欠乏は肝線維化や窒素代謝異常に関与するとされており、亜鉛改善の機序を解明することは肝発癌やQOL、生命予後の改善につながる可能性が考えられ、C型肝炎患者の治療および予後予測において大いに役立つ大変意義深い研究と評価できる。

【申請者の研究能力】

申請者は、臨床内科学や肝臓病学の理論を学び実践した上で、作業仮説を立て、実験計画を立案した後、適切に本研究を遂行し、貴重な知見を得ている。その研究成果は当該領域の国際誌への掲載が承認されており、申請者の研究能力は高いと評価できる。

【学位授与の可否】

本論文は独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって、博士(医学)の学位授与に相応しいと判定した。

(主論文公表誌)

Internal Medicine

(60 (5) : 675-680, 2021)