

氏 名	浅田 歩美
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博士 甲第744号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成28年 3月 10日
学位論文題目	NUDT15 R139C-related thiopurine leukocytopenia is mediated by 6-thioguanine nucleotide-independent mechanism in Japanese patients with inflammatory bowel disease (日本人炎症性腸疾患患者における NUDT15 R139C 関連チオプリン白血球減少症は6-チオグアニンヌクレオチドに依存しないメカニズムを介している)
審査委員	主査 教授 小笠原 一誠 副査 教授 目良 裕 副査 教授 辻川 知之

論文内容要旨

*整理番号	751	(ふりがな) 氏 名	あさだ あゆみ 浅田 歩美
学位論文題目	<p><i>NUDT15</i> R139C-related thiopurine leukocytopenia is mediated by 6-thioguanine nucleotide-independent mechanism in Japanese patients with inflammatory bowel disease (日本人炎症性腸疾患患者における <i>NUDT15</i> R139C 関連チオプリン白血球減少症は 6-チオグアニンヌクレオチドに依存しないメカニズムを介している)</p>		
【目的】	<p>チオプリン製剤である azathioprine (AZA) と 6-mercaptopurine (6-MP) は炎症性腸疾患 (IBD) 患者の寛解維持のために広く使用されている薬剤である。AZA/6-MP には骨髄抑制、肝障害、脱毛、肺炎のような毒性が報告されており、約 15-30% の患者がこれらの副作用のため治療継続が困難となる。AZA/6-MP は活性代謝産物の 6-thioguanine nucleotide (6-TGN) に代謝され、AZA/6-MP の免疫抑制作用は、6-TGN による免疫細胞の増殖阻害を介していることが知られている。AZA/6-MP による副作用の発現には、チオプリン代謝酵素【TPMT (thiopurine S-methyltransferase), ITPA (inosine triphosphate pyrophosphatase), MRP4 (multidrug resistance protein 4)】の遺伝子多型による個々のチオプリン代謝酵素活性の違いによって生じる 6-TGN の細胞内蓄積の濃度が大きく関与しているとされてきた。近年、チオプリン関連白血球減少症と脱毛の発症と強い関連を持つ遺伝子として、<i>NUDT15</i> (nucleoside diphosphate-linked moiety X-type motif 15) R139C が同定された。今回、日本人の IBD 患者において <i>NUDT15</i> の一塩基多型 (SNP) (rs116855232) と 6-TGN、チオプリン関連白血球減少症の関連について検討を行った。</p>		
【方法】	<p>対象は滋賀医科大学附属病院消化器内科通院中の AZA/6-MP 治療経験のある IBD 患者 161 名、健常者 103 名とした。対象者の末梢血より DNA を抽出し、<i>NUDT15</i> の SNP を TaqMan PCR 法にて解析した。解析した SNP と臨床データについて比較検討を行った。</p>		
【結果】	<p><i>NUDT15</i> の遺伝子型頻度は C/C 80.7%, C/T 18.2%, T/T 1.1% であった。IBD 患者のうち 45 名 (27.9%) がチオプリン関連白血球減少症 ($WBC < 3000/\mu l$) を認めた。そのうち <i>NUDT15</i> の minor allele をもつ C/T, T/T 遺伝子型は C/C 遺伝子型と比較して有意に白血球減少をきたした ($p=1.7 \times 10^{-5}$) が、6-TGN 濃度に有意差はなかった。<i>NUDT15</i> の C/T, T/T 遺伝子型は早期 (8 週未満) および遅発性 (8 週以降) の白血球減少に有意な関与を認めており ($p=1.03 \times 10^{-1}$, $p=4.3 \times 10^{-4}$)、また 2 週間および 4 週後の白血球減少数 (ΔWBC) に関しても有意な関連を認めた ($p=0.021$, $p=5.7 \times 10^{-4}$)。 <i>NUDT15</i> T/T 遺伝子型では全ての患者 (2 名) で早期の著しい脱毛と $WBC < 1000/\mu l$ となる白血球減少症を認めた。ロジスティック多変量解析においても、<i>NUDT15</i> の SNP はチオプリン関連白血球減少症に対する唯一の遺伝子因子であった ($p=0.001$)。</p>		

(続 紙)

【考察】

本研究で我々は、NUDT15 の SNP (rs116855232) はチオプリン誘発性白血球減少の有効な予測因子であり、NUDT15 関連チオプリン白血球減少症は 6-TGN 濃度に依存しないことを示した。これらの結果より、NUDT15 関連チオプリン白血球減少症はチオプリン代謝に依存しないメカニズムを介していると考えられた。

NUDT15 は、正確な DNA 複製および酸化ストレス下での異常なタンパク質合成の抑制に重要な役割を果たしているとされているが、C から T への置換による NUDT15 の機能的な変化は不明である。重度の白血球減少および重度の脱毛は、NUDT15 T/T 遺伝子型の患者に特徴的であり、C/T 遺伝子型の患者では認めなかった。強力な化学療法における急性骨髄抑制は、増殖する骨髄幹細胞におけるアポトーシス誘導の結果であり、既報では、酸化ストレスの誘導が、骨髄及び毛包幹細胞の損失の主な原因であることが示されている。これらの知見から、NUDT15 による骨髄前駆細胞における機能喪失、酸化ストレスの蓄積、アポトーシス増加の誘導が、NUDT15 関連チオプリン白血球減少症の発症メカニズムである可能性を示唆している。また、チオプリン製剤投与 2 週後および 4 週後の Δ WBC は C/C 遺伝子型に比べて有意に C/T、T/T 遺伝子型を有する患者において高度であった。これらの結果は、チオプリン製剤投与時に、NUDT15 が造血活性に対して、急速に影響を与えていることを示唆している。チオプリン代謝に依存しない白血球減少症の発症メカニズムおよび NUDT15 の機能を今後更に検討する必要がある。

【結論】

NUDT15 関連チオプリン誘発性白血球減少症は 6-TGN レベルと関連していないこと、チオプリン開始 2 週間以内の急速な白血球減少は NUDT15 T/T 遺伝子型を持つ患者で誘導されることが示された。NUDT15 の SNP は IBD 患者のチオプリン感度/毒性の増加に関連する新たな遺伝的要因であることを示唆しており、チオプリン製剤による治療の開始前に、NUDT15 の SNP を確認することは、チオプリン関連の重度の白血球減少や脱毛のリスクを軽減するために有用であると考えられる。

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	751	氏名	浅田 歩美
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体 11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>チオプリン製剤である azathioprine (AZA) と 6-mercaptopurine (6-MP) は炎症性腸疾患患者 (IBD) の寛解維持のために広く使用されている。近年、チオプリン関連白血球減少症と脱毛の発症と強い関連を持つ遺伝子として NUDT15 R139C が同定された。今回、日本人の IBD 患者において NUDT15 の SNP と AZA/6-MP の代謝産物 6-TGN、チオプリン関連白血球減少症の関連について検討を行った。</p> <p>1) NUDT15 R139C 関連チオプリン関連白血球減少症は 6-TGN 濃度とは関連していない。 2) NUDT15 の SNP は日本人 IBD 患者のチオプリン関連白血球減少症と強い相関を認めた。</p> <p>以上の結果から、チオプリン製剤治療開始前に NUDT15 の SNP を解析することは、チオプリン関連の重度の白血球減少や脱毛のリスクを軽減するために有用であることが明らかとなった。</p> <p>本論文は、NUDT15 の SNP は IBD 患者のチオプリン製剤による副作用を予測するのに有用であることを示したものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 499 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 28 年 1 月 26 日)</p>			