

博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 植田 瑛子

横浜市立大学大学院医学研究科 病態制御内科学

審査員

主査 横浜市立大学大学院医学研究科 内分泌・糖尿病内科学 教授 寺内 康夫
副査 横浜市立大学大学院医学研究科 血液・免疫・感染症内科学 教授 中島 秀明
副査 横浜市立大学大学院医学研究科 臨床疫学・臨床薬理学 教授 後藤 温

博士の学位論文審査結果の要旨

Clinical significance of a novel reticulocyte-based erythropoietin resistance index in HD patients: A retrospective study

末梢血中網状赤血球ヘモグロビン濃度を用いたエリスロポエチン反応性指標と血液透析患者の生命予後に関する検討

【申請者による学位論文の説明】

まず申請者より、以下のような説明が行われた。

血液透析患者の貧血治療の中心は erythropoiesis stimulating agent (ESA) 投与だが、鉄欠乏・炎症・透析不足・出血・残血等が ESA 低反応性の原因となる。ESA 反応性指標として汎用されている erythropoietin resistance index (ERI) は、体重あたりの ESA 投与量を血中ヘモグロビン(Hb)濃度で除した値であり、血液透析患者の生命予後との関連が報告されている。しかし従来 ERI は、算出に用いる血中 Hb 濃度が長期的指標であるために、特定の ESA 投与に応じた Hb 産生に注目できず、ESA 反応性に関連する諸因子の影響の分析も困難である。血中網状赤血球ヘモグロビン (RetHb) 濃度は数日以内の Hb 合成のみを反映する短期的指標であり、特定の ESA 投与に応じた Hb 産生の定量化、評価時点での ESA 反応性に関連する諸因子による補正が可能である。そこで、本研究では血中 RetHb 濃度を用いた新規 ERI を考案し ($ERI_{\Delta RetHb}$)、血液透析患者の生命予後との関連を分析した。

先行研究で血中 RetHb 濃度を測定した血液透析患者 102 例を対象とする後ろ向きコホート研究を実施した。先行研究のデータから $ERI_{\Delta RetHb}$ を算出し、その後 3 年間の全死亡との関連を分析した。 $ERI_{\Delta RetHb}$ は下記のように定義した。

$$ERI_{\Delta RetHb} = [ESA \text{ 投与量}(\mu\text{g}/\text{月})/\text{体重}(\text{kg})] / 10^{\Delta RetHb} \times (\text{mg}/\text{dL})$$
$$\begin{aligned} \times \Delta RetHb \text{ (mg/dL)} &= \text{ESA 投与 7 日後の血中 RetHb 濃度 (mg/dL)} \\ &\quad - \text{ESA 投与前の血中 RetHb 濃度 (mg/dL)} \end{aligned}$$

$ERI_{\Delta RetHb}$ 四分位群間の患者特性比較で、第 4 四分位群 ($ERI_{\Delta RetHb}$ 高値群) は有意に高齢で、自己動静脈内シャント以外のバスキュラーアクセス保有率が高く、ESA 投与量が多く、血中 Hb 濃度が低値であった。平均 28.8 ヶ月の観察期間中に、102 人中 13 人 (12.7%) が死亡した。Kaplan-Meier 法で $ERI_{\Delta RetHb}$ 四分位群間の 3 年間の生存曲線に有意差を認め (Log-rank $p=0.023$)、第 4 四分位群で最も生存率が低かった。単変量 Cox 回帰分析で、血中 Hb 濃度や ESA 投与前・投与後の血中 RetHb 濃度は全死亡と関連しなかったが、 $\Delta RetHb$ および $ERI_{\Delta RetHb}$ は全死亡と有意に関連した。潜在的交絡因子で調整した多変量 Cox 回帰分析 (ステップワイズ法) で、 $ERI_{\Delta RetHb}$ は全死亡の独立した予測因子であった。血中 Hb 濃度から算出した従来 ERI (ERI_{Hb}) は、単変量 Cox 回帰分析では全死亡と有意に関連したが、多変量 Cox 回帰分析で全死亡の独立予測因子とならなかった。

$ERI_{\Delta RetHb}$ と患者特性については、高齢や人工血管・バスキュラーカテーテルと ESA 低反

応性の関連を示した既存の報告と一致した。一方、鉄欠乏・炎症は ESA 低反応性の二大原因とされているが、本研究では $ERI_{\Delta RetHb}$ 四分位群間で鉄マーカー・CRP に有意差はなかった。対象の特性（鉄充足状態、顕性炎症の除外）、ベースライン採血と $ERI_{\Delta RetHb}$ 評価のタイムラグが影響した可能性がある。多変量 Cox 回帰分析の結果から、 $ERI_{\Delta RetHb}$ の予後予測能が ERI_{Hb} の予後予測能よりも向上している可能性がある。 $ERI_{\Delta RetHb}$ に直接的に反映される「ESA 投与に応じた Hb 産生能の低下」は、炎症による鉄利用障害や尿毒症による骨髄の ESA 反応性低下等、血液透析患者の長期予後を規定する病的状態を表す可能性がある。また、透析膜への残血・頻回採血・軽度一過性出血等の予後と関連の少ない失血の影響の除外が、予後予測能向上につながった可能性もある。一方、対象症例数の少なさ、 $ERI_{\Delta RetHb}$ が単回評価であったこと、 $ERI_{\Delta RetHb}$ 評価とベースライン採血のタイムラグ、鉄補充方法の不均一性は本研究の限界である。また本研究では顕性出血を除外したが、出血が臨床上問題となる患者においては失血の影響も反映し得る ERI_{Hb} の予後予測能が優れる可能性がある。

従来指標よりも ESA に応じた新規 Hb 産生を直接的に評価し得る ESA 反応性指標として $ERI_{\Delta RetHb}$ を考案した。血液透析患者において、 $ERI_{\Delta RetHb}$ は全死亡の有意な独立予測因子であることが示された。

【質疑応答】

まず寺内主査より申請者の研究へのコミットが確認され、研究立案・予後に関するデータ収集・統計解析・論文化を申請者が担当した旨回答された。

続く中島副査との質疑応答の内容は以下のとおりであった。

質問

- (1)CERA の投与方法は全例で 4 週に 1 回であったか。投与方法にばらつきがあると結果の解釈が難しくなる。
- (2)ESA 低反応性の生命予後が不良であることのメカニズムをどう考えるか。血液透析患者の死因とどのような関連があるか。
- (3)内シャント以外のバスキュラーアクセスが ESA 低反応性と関連したメカニズムを詳細に考察したか。患者背景との関連はどうか。
- (4) $ERI_{\Delta RetHb}$ と CRP の関連がなかったことについてどのように考察するか。
- (5) $ERI_{\Delta RetHb}$ は将来的にどのように臨床に応用し得るか。

回答

- (1)実臨床上 CERA は 2 週毎または 4 週毎に投与されるが、本研究では 4 週に 1 回で統一されていた。
- (2)ESA に応じた Hb 産生が十分生じない背景に、炎症等の鉄利用障害や尿毒症による骨髄の ESA 反応性低下がある。血液透析患者の死因は心血管死亡が最も多く、炎症や尿毒症は動脈硬化進展等を介して心血管リスクとなり血液透析患者の予後を規定する可能性がある。

(3)人工血管やバスキュラーカテーテルは感染・炎症の温床となることが、ESA 低反応性の主因と考えられる。この他に血栓傾向による貧血、内シャント以外のバスキュラーアクセスが選択される患者が長期透析・高齢・自己動静脈荒廃・高度動脈硬化等の背景を高頻度に有することが関連する可能性もある。

(4)まず CRP 高値の患者を除外した影響が考えられる。また、 $ERI_{\Delta RetHb}$ 四分位群間の特性比較で CRP に有意差はなかったものの、第 4 四分位群の CRP 平均値が最も高値であった。対象数が増えれば関連する傾向が見られる可能性はある。好中球数・サイトカイン等、より鋭敏な指標による炎症評価により関連が見られる可能性もある。

(5)臨床への応用として、 $ERI_{\Delta RetHb}$ のモニタリングにより ESA 低反応性を来す併存病態の早期検出につながる可能性がある。この可能性については、前向き試験で $ERI_{\Delta RetHb}$ の変動と ESA 反応性に関連する諸因子の変動の関連を分析する必要がある。また $ERI_{\Delta RetHb}$ の評価により、従来の血中 Hb 濃度に基づく ESA 投与量設計よりも微細な ESA 投与調整が可能となり、血中 Hb 濃度の安定化につながる可能性があると考えている。

続く後藤副査との質疑応答の内容は以下のとおりであった。

質問

(1)ESA は、投与により透析患者の予後が改善するエビデンスに基づいてプラクティスで使用されているのか。

(2)従来 ERI と全死亡の関連は、先行研究ではどの程度であったか。本研究対象における従来 ERI と全死亡の関連について、検出力不足であった可能性に言及されたが、本来検出されるはずの関連が検出されなかったのか。先行研究のサンプルサイズは本研究と比較してどうであったか。

(3)本研究中で算出した従来 ERI は定義式に血中 Hb 濃度が含まれるが、どの時点の血中 Hb 濃度を使用したか。

(4) $ERI_{\Delta RetHb}$ の定義式で、分母を $10^{\Delta RetHb}$ とした理由はなにか。

(5)本研究は単施設研究か。追跡はどのように行ったか。死因はどうであったか。

(6)ESA 低反応性の患者では心血管リスクの上昇が予想されるが、本研究の対象では ESA 低反応性と心血管死亡の関連は認められたか。

(7)打ち切り症例はあったか。その理由は何であったか。

(8)第 4 四分位群は他群と比較して 10 歳程度高齢である。生存率の差は、年齢の差で説明し得る可能性はないか。多変量 Cox 回帰分析はステップワイズ法を用いているが、年齢を強制投入する分析は実施したか。

回答

(1)ESA の登場以前は血液透析患者の貧血治療は輸血しかなく、感染症や鉄過剰の問題があり予後不良であった。ESA 導入により血液透析患者の貧血管理は明らかに向上した。一方、ESA を用いた血中 Hb 濃度の完全な正常化は血液透析患者の生命予後を改善させないとの

知見が集積され、海外では Hb 11-13g/dL 程度、本邦では 10-12g/dL 程度のターゲット血中 Hb 濃度を定めて ESA 投与量調整を行うのが現在のプラクティスである。

(2)多くの先行研究で従来 ERI と血液透析患者の生命予後の関連が示されている。Lopez-Gomez の報告では ERI 高値群で有意に 1 年生存率が低く、log-rank $p < 0.001$ と生命予後との強い関連が示された。本邦の血液透析患者 3000 人弱を対象とした Eriguchi らの多施設前向きコホート研究では、ERI は全死亡の独立予測因子であり、ハザード比 1.64, $p < 0.001$ であった。先行研究のサンプル数は数千人規模であり、本研究 ($n=102$) よりも遙かに大きかった。ただし、本研究でも単変量 Cox 回帰分析では従来 ERI が全死亡の有意な予測因子となっており、先行研究と矛盾する結果ではないと考えている。

(3)1 カ月間の血中 Hb 濃度の平均値である。day 0, 7, 14, 21, 28 に血中 Hb 濃度を測定し、その平均値を採用した。この他にベースライン(day 0)の血中 Hb 濃度、血中 Hb 濃度ピーク値、day 14 の血中 Hb 濃度を使用した分析も実施したが、いずれも分析結果は同様であった。

(4)本研究対象にそのような症例は含まれなかったが、 ΔRetHb はデルタ値であるため理論上はゼロに近い値や負の値も取り得る。 ΔRetHb 減少に伴い連続的に ERI が増加するように、指数化の処理を行った。

(5)透析クリニックにおける単施設研究である。透析クリニックに赴いて該当患者の診療録を確認することで、予後を追跡した。102 例中 13 例が死亡し、うち 4 例が心血管死亡、3 例が感染症であった。心血管死亡が最多で約 1/3 を占め、次いで感染症という死因の内訳は、本邦の血液透析患者の死因と一致する。

(6)サンプル数が少なかったため心血管死亡をアウトカムとした分析は実施しなかった。ただし、ESA 低反応性の患者 ($\text{ERI}_{\Delta \text{RetHb}}$ 高値群) では全死亡が多く、その内訳は前述の通り心血管死亡が最多であったことから、ESA 低反応性患者で心血管死亡リスクが高いことが本研究からも推察される。

(7)追跡不能例が 15 例あった。理由は全例で他の血液透析施設への転医であった。血液透析患者が透析施設を変更することは一定の頻度で発生する。3 年間で 102 例中 15 例が転医したことは、標準的な範囲内であったと考えている。

(8)単変量 Cox 回帰分析で全死亡の有意な予測因子となった因子に説明変数を絞り、強制投入法で多変量 Cox 回帰分析を実施した。年齢は単変量 Cox 回帰分析で全死亡の有意な予測因子であったため、そのモデルにおいて説明変数として強制投入された。その場合でも $\text{ERI}_{\Delta \text{RetHb}}$ は全死亡の独立予測因子であった。

最後に寺内主査との質疑応答が行われ、内容は以下のとおりであった。

質問

(1)総論で ESA 低反応性の一因として透析不足が挙げられていたが、透析時間延長等の工夫により ESA 反応性は改善し得るのか。

(2)死亡率の高かった第 4 四分位群と他群の間で、透析導入の原疾患に差はあったか。

(3)内シャント以外のバスキュラーアクセスを使用していた患者について、追跡期間中のア

クセスの変更はなかったか。

(4)Kaplan-Meier 曲線で、追跡開始後 10 カ月程度より生存率に差がつき始め、その後第 4 四分位群は徐々に生存率が低下している。10 か月後までは生存率に差がなかったことについて、どのように考察するか。

(5)国内外で同様の研究は実施されているか。

回答

(1) 1 回あたりの透析時間や週当たりの透析回数と、従来 ERI や血中 Hb 濃度を指標とした ESA 反応性の関連を調べた先行研究は複数あるが、関連は controversial である。従来 ERI や血中 Hb 濃度を用いた評価では、血中 Hb 濃度が長期的指標であるため、評価期間内に ESA 反応性に影響する他の因子が変動し、透析処方変更単独の影響を検出できていない可能性がある。今回考案した $ERI_{\Delta RetHb}$ は、介入の効果を検出するために有効である可能性がある。

(2)透析導入原疾患については、有意な群間差を認めなかった。

(3)透析クリニックの慢性維持透析患者を対象としたため、一時的なバスキュラーカテーテル留置を多用する急性期病院と異なり、バスキュラーアクセスは固定している患者がほとんどである。また、自己動静脈内シャントの作成が困難な患者が人工血管やバスキュラーカテーテルの対象となるため、自己動静脈内シャントに変更になることはまずない。

(4) $ERI_{\Delta RetHb}$ が高値となるような慢性炎症等の病態は、時間をかけて予後に影響する可能性がある。

(5)網状赤血球数で ESA 反応性を評価する試みは先行研究で行われたが、生命予後との関連は示されず、血中 Hb 濃度の方が重要であると結論づけられた。本研究で使用した血中 RetHb 濃度は、網状赤血球の数のみではなく、1 つの網状赤血球内にどれだけ Hb が合成されたかも加味できる指標である。このような指標を用いた ESA 反応性評価は、我々の知る限り他に行われていない。

以上の内容の審査に基づき、審査員総意のもと、本研究は博士（医学）の学位授与に値すると判断された。