

論文内容要旨

Ultradeep sequencing study of chronic hepatitis C virus genotype 1 infection in patients treated with daclatasvir, peginterferon, and ribavirin.

(ダクラタスビル併用ペグインターフェロン、リバビリン療法を施行されたジェノタイプ1型C型慢性肝炎患者に対する次世代シーケンサを用いた解析)

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 58 : 2105-2112, 2014.

主指導教員：茶山 一彰教授

(応用生命科学部門 消化器・代謝内科学)

副指導教員：北台 靖彦准教授

(応用生命科学部門 消化器・代謝内科学)

副指導教員：田妻 進教授

(広島大学病院 総合診療医学)

村上 英介

(医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻)

論文内容要旨

創生医科学専攻 村上 英介

【背景および目的】C型肝炎ウイルス (Hepatitis C virus; HCV) は、遺伝子の相同性から6つの genotype に分類され、本邦の HCV 持続感染者の約70%は genotype 1b 感染である。これまで、HCV 持続感染例に対して、インターフェロンベースの治療が行われているが、HCV genotype 1b、高ウイルス量症例に対するウイルス排除率 (Sustained virological response; SVR 率) は、ペグインターフェロン・リバビリン併用療法 (PEG-IFN・RBV) を行った場合でも約40%であった。近年、この HCV genotype 1b、高ウイルス量症例に対する新規治療薬として、ウイルスの非構造蛋白 (NS3、NS5A、NS5B) をターゲットとしたウイルス蛋白阻害剤 Direct acting antivirals (DAAs) が開発され、SVR 率向上が期待されている。しかしながら、DAAs は、強力な抗ウイルス効果の一方で、治療中に薬剤耐性ウイルスが出現し、ウイルスの再増殖 (viral breakthrough) が生じる症例の存在が問題となっている。本研究では、DAAs の一つである NS5A 阻害剤ダクラタスビル (DCV) を用いた DCV・PEG-IFN・RBV3 剤併用療法の治療成績ならびに変異クローンの変化について解析した。

【対象および方法】対象は、当院通院中の HCV genotype 1b 感染高ウイルス量症例8例 (男性2例、女性6例) であり、初回治療例が4例、前治療 (PEG-IFN・RBV 併用療法) 無効例が4例だった。これら8例に対し、24週間の DCV・PEG-IFN・RBV3 剤併用療法 (DCV 10 or 60mg/日 経口投与、PEG-IFN α 2b 1.5 μ g/kg/週 皮下注射、RBV 200~800mg/日 経口投与) を行い、治療終了24週まで HCV RNA の持続陰性化が得られた症例を SVR と判定した。また、DCV 耐性ウイルスの存在を明らかにするため、治療前および治療中の保存血清を用いて、HCV NS5A 領域のアミノ酸配列 (31番、93番) を次世代シーケンサにて解析した。尚、次世代シーケンサ解析にて、0.1%以上の割合で認められた配列を変異ありと判定した。

【結果】対象8症例は、DCV・PEG-IFN・RBV3 剤併用療法にて、8例中6例 (75%) で SVR が得られたが、2例 (いずれも前治療無効例) で viral breakthrough を認めた。治療前の患者血清を用いて、次世代シーケンサ解析を行ったところ、DCV 耐性に関与するとされる NS5A 領域の31番目のアミノ酸には、変異クローンを認めなかったが、93番目のアミノ酸においては4例に、0.1~0.5%の変異クローンを認めた。そこで、治療前の変異の有無と治療効果を検討したが、治療開始前から変異クローンが存在した4例はいずれも SVR を達成した。一方、治療中に viral breakthrough を認めた2例 (症例7、8) の解析では、治療前には変異クローンは検出されなかったが、治療経過中に変異クローンの出現を認めた。そこで、2例において、治療経過中の変異クローンの割合の変化について検討を行った。症例7では、治療2週目より viral breakthrough を認め、治療前に認められなかった31番、93番のアミノ酸変異を、治療10週目にはそれぞれ98%、32%の割合で認めた。さらに、それらの変異クローンは治療終了16週間後も保持されており、31番の変異クローンを99.8%、93番の変異クローンを32.5%の割合で認めた。症例8では、治療4週目より viral breakthrough を認め、12週目に治療は中止された。変異クローン解析の結果、治療1週目より、31番の変異クローンを99.6%、93番の変異クローンを3.3%に認め、治療中止後も、31番の変異クローンは53.2~77.1%、93番の変異クローンは15.7~87.6%の割合で保持されていた。

【結論】次世代シーケンサ解析は、治療前より存在する少数の変異クローンの検出が可能であるが、DCV・PEG-IFN・RBV3 剤併用療法では、治療前に変異クローンが存在する症例においても SVR が達成されていた。一方、DCV・PEG-IFN・RBV3 剤併用療法中に viral breakthrough を生じた症例では、治療早期より変異クローンを検出されており、次世代シーケンサ解析が治療開始早期の変異クローン検出に有用であることが示された。DAAs 治療中に増殖した変異クローンは、治療終了後も長期にわたり存続する可能性が考えられ、このような変異クローンへの対策を構築することが今後の課題と考えられた。