

## 論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )	氏名	村上 英介
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論 文 題 目			
<p>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)</p>			
論文審査担当者			
主 査	教 授	田 中	純 子 印
審査委員	教 授	坂 口	剛 正
審査委員	准教授	横 崎	典 哉
〔論文審査の要旨〕			
<p>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・RBV 3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。</p> <p>対象は、広島大学病院消化器・代謝内科通院中の 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・RBV 3剤併用療法 (DCV 10 or 60mg/日 経口投与、PEG-IFN <math>\alpha</math> 2b 1.5 <math>\mu</math>g/kg/週 皮下注射、RBV 200~800mg/日 経口投与) を行い、治療終了後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。なお、次世代シーケンス解析にて、0.1%以上の割合で認めた配列を変異ありと判定した。</p>			

結果は以下のように要約される。

対象 8 症例は、DCV・PEG-IFN・RBV 3 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、次世代シーケンス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。

次世代シーケンス解析は、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・RBV 3 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・RBV 3 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が検出された。これらのことから、次世代シーケンス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。

以上の結果から、本論文は DCV・PEG-IFN・RBV 3 剤併用療法の治療成績ならびに変異クローンと viral breakthrough との関連を明らかにした点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。