

論文内容要旨

Efficacy of glecaprevir and pibrentasvir treatment for genotype 1b HCV with drug resistance-associated variants in prior DAA treatment failures and human hepatocyte transplanted mice

(直接作用型抗ウイルス薬治療不成功例とヒト肝細胞移植マウスにおける薬剤耐性変異を伴うジェノタイプ 1b 型 C 型肝炎ウイルスに対するグレカプレビル/ピブレンタスビル治療の有効性の研究)

① Real-world efficacy of glecaprevir plus pibrentasvir for chronic hepatitis C patient with previous direct-acting antiviral therapy failures

(実臨床における直接作用型抗ウイルス薬治療不成功 C 型肝炎患者に対するグレカプレビル/ピブレンタスビルの有効性の検討)

Journal of Gastroenterology, 54(3):291-296,2018.

② Efficacy of glecaprevir and pibrentasvir treatment for genotype 1b hepatitis C virus drug resistance-associated variants in humanized mice

(ヒト肝細胞移植マウスを用いた薬剤耐性変異を伴うジェノタイプ 1b 型 C 型肝炎ウイルスに対するグレカプレビル/ピブレンタスビル治療の有効性の検討)

Journal of General Virology, 100(7):1123-1131,2019.

主指導教員：茶山 一彰 教授

(医系科学研究科 消化器・代謝内科学)

副指導教員：田中 信治 教授

(広島大学病院 内視鏡医学)

副指導教員：相方 浩 准教授

(広島大学病院 消化器・代謝内科学)

大沢 光毅

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景・目的】

Daclatasvir (DCV)および asunaprevir (ASV)は C 型肝炎ウイルス (hepatitis C virus : HCV) の非構造蛋白(Non-structural protein : NS)を標的とする直接作用型抗ウイルス剤 (direct-acting antiviral : DAA)であり、これらの併用療法は genotype 1b 型(GT1b)の HCV に高い効果を示すが NS の各領域(3、5A)における薬剤耐性変異(resistance-associated variants : RAVs)の存在が治療不成功の一因となる。第二世代の DAAs である glecaprevir (GLE)と pibrentasvir (PIB)は主要 GT(1~6 型)に対して高率にウイルス学的持続陰性化 (sustained virological response : SVR)を達成するが、DCV/ASV 不成功例に生じる NS5A 領域の RAVs を伴った DAA 不成功例に対する有効性は明らかではない。本研究では DAA 不成功例とヒト肝細胞移植マウスにおいて、RAVs を伴う GT1b の HCV に対する GLE/PIB の有効性を検討した。

【方法】 C 型慢性肝炎 DAA 不成功例に 12 週間の GLE 300mg+PIB 120mg /日による治療を行い SVR12 (治療終了 12 週後の血中 HCV RNA 陰性) 判定がなされた 30 例 (GT1b : 21 例、2a : 2 例、2b : 6 例、3a : 1 例、肝線維化進例[FIB4 index \geq 3.25] : 19 例) を対象とした。またヒト肝細胞移植 uPA-SCID マウスに GT1b の野生型あるいは変異を有する HCV を感染させ、GLE 60 mg/kg/日と PIB 25 mg/kg/日を投与して血中 HCV 量の推移を調べた。Direct sequence 法、次世代シーケンサーを用いた deep sequence 法で RAVs を解析し、HCV レプリコン細胞を用いて薬剤耐性を評価した。

【成績】 DAA 不成功例に対する GLE/PIB の有効性を検討した。GT1b で GLE/PIB 開始前の NS5A の RAVs を direct sequence 法で解析した 14 例において、NS5A-L31M/I/V/F+Y93H は 8 例、A92K は 2 例、P32 欠失は 1 例に認めた。GLE/PIB 終了時 HCV は全例で陰性化していたが、終了 4 週後に GT1b の 2 例で再燃し、SVR12 は 28 例で得られた。また GT2a、GT3 は全例、肝線維化進展例は 18 例、A92K は 2 例とも SVR12 が得られた。Direct sequence 解析により、再燃した 1 例は治療前に NS3-D168E と NS5A-L31I+P58S+Y93H を認め、再燃後はさらに追加の変異(NS5A-L28M+V75A)が検出された。もう 1 例は治療の前後で NS5A-L31F/P32 欠失を認めたが、他に新たな変異は確認されなかった。次にヒト肝細胞移植マウスを用いて RAV を伴った GT1b の HCV に対する GLE/PIB の有効性を検討した。マウスに野生型と NS5A-L31M+Y93H 変異を有する HCV を感染させ GLE/PIB を投与したところ、投与終了 12 週後の HCV はいずれも陰性であった。一方、NS3-D168E、NS5A-P58S+A92K 変異を有する HCV を感染させたマウスでは GLE/PIB 終了時に HCV は陰性化していたが、その後再燃し、direct sequence 法にて追加の変異(NS5A-Q24R+R30E)が検出された。レプリコン細胞による検討では NS5A-P58S+A92K は PIB に対し、野生型に比べ約 1.5 倍の耐性を示した。NS3-D168V、NS5A-P32 欠失を有する HCV を感染させたマウスでは GLE/PIB 投与中も HCV は陰性化しなかったが、投与終了後に direct sequence 法で新たな変異は検出されなかった。続いて P32 欠失型 HCV と野生型 HCV を 5 : 5、1 : 9、1 : 99 の比率でマウスに感染させ GLE/PIB を投与したところ、P32 欠失を有する HCV を高比率(5 : 5)で感染させたマウスでは 5 頭中 1 頭、低比率(1 : 9、1 : 99)で感染させたマウスでは 11 頭中 10 頭で GLE/PIB 終了時に HCV 陰性化を認めた。

投与終了後に再燃し direct sequence 法で NS5A 領域を確認した 8 例は P32 欠失を有し、その塩基配列は感染源の P32 欠失を有する HCV と殆ど同じであった。一方、GLE/PIB 投与前の direct sequence 法では全例が野生型であり、次世代 sequence 法でも P32 欠失は検出されなかった。

【結語】 DAA 不成功例に対する GLE/PIB は肝線維化の程度によらず幅広い GT で有効であった。ヒト肝細胞移植マウスにおいて、GLE/PIB は野生型や NS5A-L31M+Y93H 変異には有効だったが、NS3-D168E、NS5A-P58S+A92K 変異では効果が劣り、再燃時に追加で出現した NS5A-Q24R+R30E は PIB 抵抗性を示す可能性が考えられた。また NS3-D168V、NS5A-P32 欠失に対する効果は低く、治療前に次世代 sequence 法で検出されない程度の少量の NS5A-P32 欠失を有する HCV であっても GLE/PIB 投与により急速に増加して再燃に関与する可能性が示唆された。