

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	菅 宏美
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
<p>論文題目</p> <p><b>Protease Inhibitor Resistance Remains Even After Mutant Strains Become Undetectable by Deep Sequencing</b></p> <p>(プロテアーゼ阻害薬治療により出現した薬剤耐性型 HCV は、ディープシーケンスで検出感度以下であっても残存する)</p>			
<p>論文審査担当者</p> <p>主査教授 田中純子 印</p> <p>審査委員教授 坂口剛正</p> <p>審査委員講師 相方浩</p>			
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>直接作用型抗ウイルス薬、direct acting anti-viral agents (DAA) の登場により C 型慢性肝炎の治療成績は飛躍的に向上し、治療法の選択肢は増えた一方で、耐性ウイルスが問題となっている。今回、著者は第 2 世代 NS3 プロテアーゼ阻害薬治療後に、再度 NS3 プロテアーゼ阻害薬を使用した際の感受性の変化について検討した。</p> <p>広島大学病院において、NS5A 阻害剤であるダクラタスビルとプロテアーゼ阻害剤であるアスナプレビル併用療法を行った 202 例、内訳としてプロテアーゼ阻害薬治療歴のない 193 例、第 2 世代プロテアーゼ阻害剤シメプレビル/PEG-IFN/RBV 治療後の 9 例を対象として治療効果を比較検討した。</p> <p>また、DAA 治療歴のない患者血清を接種したヒト肝細胞キメラマウスにシメプレビル 20 mg/kg を 4 週間投与し、4 週後の血清を passage したマウスにダクラタスビル 10 mg/kg とアスナプレビル 40 mg/kg を 4 週間経口投与した。</p> <p>さらに、ダクラタスビル・アスナプレビル併用療法にて Breakthrough を来した患者の治療後 60 週の血清あるいは DAA 治療歴のない患者血清をヒト肝細胞キメラマウスに接種し、プロテアーゼ阻害薬を中心とした DAAs を 3 週間経口投与した。血中 HCV-RNA 量を測定し、deep sequence 法を用いて NS3 領域 D168 耐性変異の割合の推移を比較検討した。</p> <p>プロテアーゼ阻害薬治療歴のない症例のウイルス陰性化 (SVR) 率は 95.3% (184/193) に対し、シメプレビル/PEG-IFN/RBV 治療後は 33.3% (3/9) と有意に治療効果が低かった。</p> <p>マウスへの感染実験においては、シメプレビル投与後、血中 HCV に NS3-D168 V/G/E 変異が出現し 95.7% に増加した。このマウスの血清を別の 4 頭のマウスに passage し、HCV を感染させたところ、NS3-D168 変異株の割合はそれぞれ 3.3%、13.2%、</p>			

57.7%、86.1%となった。これら4頭のマウスにダクラタスビル・アスナプレビルを投与したところ、NS3-D168変異が3.3%、13.2%の2頭のマウスではHCVが排除されたが、57.7%、86.1%の2頭のマウスではHCV-RNAが再燃した。

C型肝炎症例に対する治療では、Breakthrough症例において、Breakthrough発症直後にNS3-D168E、NS5A-L31VおよびY93H変異が出現した。経時的に耐性変異を測定したところ、NS5A-L31VおよびY93H変異は長期的に残存したが、NS3-D168E変異は次第に減少し、治療終了60週間後にはdeep sequence法にても検出感度以下となった。本症例のbreakthrough 60週間後の血清またはDAA未治療HCV例の血清を別のマウスにpassageしたところ、NS3-D168変異はいずれのマウスにおいても1.0%未満であった。未治療症例の血清を投与したマウス群とbreakthrough症例の血清を投与したマウス群の両群のマウスにシメプレビル20 mg/kgを3週間投与したところ、DAA未治療例のHCV感染マウスのNS3-D168変異は低頻度の出現であったのに対し、breakthrough例の血清投与マウスのNS3-D168変異は2週で高度に増加し( $P<0.05$ )、すべてのマウスで血中HCVの再上昇が認められた。また、シメプレビル20 mg/kgとリバビリン50 mg/kgの併用投与では、breakthrough例の血清投与マウスはNS3-D168耐性の増加が3週まで抑制されたが、HCV-RNAの低下は軽度であった。さらに、シメプレビル20 mg/kgとNS5B阻害剤ソフォスブビル80 mg/kgの併用投与において、breakthrough例の血清投与マウスではNS3-D168耐性の増加が3週まで抑制されたが、最終的な耐性株の割合は同程度で、HCV-RNAの再上昇も認められた。シメプレビル、アスナプレビル、耐性プロファイルの異なるプロテアーゼ阻害薬であるテラプレビル400 mg/kgとソフォスブビルの併用では、breakthrough例の血清投与マウスでもNS3-D168耐性変異の出現が抑制され、HCV RNAの持続低下が得られた。

よって、プロテアーゼ阻害薬治療非SVRに出現したNS3-D168耐性変異は次第に減少し、長期的にはdeep sequence法にて検出感度以下になるが、再投与により耐性変異が容易に再出現する可能性が示された。

以上の結果から、本論文はDAA再治療の際には、以前に投与された薬剤に対する耐性が消失していても、耐性プロファイルの異なる薬剤を選択することの必要性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。