

# 論文内容要旨

Association between resistance-associated NS5A variants of hepatitis C virus and efficacy of direct-acting antivirals in human hepatocyte transplanted mice

(ヒト肝細胞キメラマウスを用いた NS5A 阻害薬耐性変異型 HCV と DAA 療法の関連性の研究)

① Prevalence of NS5A resistance associated variants in NS5A inhibitor treatment failures and an effective treatment for NS5A-P32 deleted hepatitis C virus in humanized mice

(NS5A 阻害薬治療不成功例における NS5A 耐性関連変異およびヒト肝細胞キメラマウスを用いた NS5A-P32 欠失変異を持つ C 型肝炎ウイルスに対する有効な治療法の検討)

Biochemical and Biophysical Research Communications, 500: 152-157, 2018.

② Limitations of daclatasvir/asunaprevir plus beclabuvir treatment in cases of NS5A inhibitor treatment failure

(NS5A 阻害薬治療不成功例におけるダクラタスビル/アスナプレビル/ベクラビル治療の問題点について)

Journal of General Virology, 99: 1058-1065, 2018.

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：田妻 進 教授

(広島大学病院 総合診療医学)

副指導教員：伊藤 公訓 准教授

(医系科学研究科 消化器・代謝内科学)

寺岡 雄吏

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景・目的】C型肝炎ウイルス (hepatitis C virus : HCV) の NS3/4A プロテアーゼ、NS5A、NS5B ポリメラーゼを標的とした直接作用型抗ウイルス薬 (direct-acting antiviral ; DAA) は HCV に対し強力な抗ウイルス効果を有する。DAA 療法により C 型慢性肝炎に対する治療効果は飛躍的に向上したが、薬剤耐性変異型ウイルスが問題となる。本研究では、新規 DAA の治療効果と薬剤耐性変異との関連性を、HCV 感染モデルマウスを用いて明らかにし、高度耐性変異に対する治療法の探索を行った。

【方法】ヒト肝細胞移植 uPA-SCID マウスに、野生型 HCV を有する DAA 未治療の genotype 1b 型 C 型肝炎患者、あるいは薬剤耐性変異型 HCV を有する DAA 療法不成功患者の血清を経静脈的に投与し、HCV 感染を確認後、DAA を連日経口投与した。マウス血中 HCV RNA を real-time PCR で測定し、マウス血中 HCV の NS3、NS5A 及び NS5B 領域の薬剤耐性変異をダイレクトシーケンス法にて解析した。

【成績・結果】 Daclatasvir (NS5A 阻害薬) +asunaprevir (NS3/4A プロテアーゼ阻害薬) +beclabuvir (NS5B ポリメラーゼ阻害薬) (DCV/ASV/BCV) の効果と薬剤耐性変異との関連を検討した。野生型、あるいは DCV/ASV 療法不成功例に生じた NS5A-L31M/Y93H+NS3-D168A 薬剤耐性変異型 HCV 感染マウスに対し、DCV (20 mg/kg/day) +ASV (75 mg/kg/day) を 4 週間投与した。野生型 HCV 感染マウスでは 3/3 頭すべてで HCV 排除が得られたが、変異型 HCV 感染マウスでは 3/3 頭すべてで薬剤投与終了後、ウイルス再燃が生じた。変異型 HCV 感染マウスに BCV (50 mg/kg/day) を 4 週間単独投与したところ、3/3 頭すべてにおいて投与中のウイルス再上昇が生じ、NS5B-P495L の新規耐性変異が出現した。変異型 HCV 感染マウスに対し DCV/ASV/BCV の 3 剤を 4 週間併用投与したところ、6/6 頭全例で投与中に血中 HCV の陰性化が得られたものの、投与終了後、ウイルス再燃が生じ、うち 2 頭で NS5B-P495A/L 変異が出現した。C 型肝炎患者においては、DCV/ASV/BCV 療法により、DAA 未治療の 1 例では HCV 排除が得られたが、DAA 前治療不成功 4 例 (DCV/ASV 2 例、SOF/LDV 1 例、DCV/ASV 及び sofosbuvir + ledipasvir [SOF/LDV] 1 例) の 3 例では、治療終了後にウイルス再燃し、内 DCV/ASV 及び SOF/LDV 前治療不成功例で NS5B-P495S の変異が出現した。

2017 年に登場した glecaprevir (NS3/4A プロテアーゼ阻害薬) +pibrentasvir (NS5A 阻害薬) (GLE/PIB) は既存の DAA に耐性を示す NS5A-L31M/Y93H にも高い治療効果を示す。一方、DAA 前治療不成功例の一部に出現する高度耐性変異 NS5A-P32deletion (P32del) は pibrentasvir に対し強い抵抗性を有することが知られているが、P32del の出現頻度あるいは P32del を有する症例に対する GLE/PIB 療法の効果は明らかではない。当院および関連施設 (広島肝臓スタディグループ) における DAA 前治療不成功 23 例の血清から分離した HCV をダイレクトシーケンス法により解析し、P32del は 1/23 例 (4.3%) で検出された。野生型 HCV、あるいは DCV/ASV 療法不成功例から得られた NS3-D168V+NS5A-P32del 変異型 HCV を感染させたマウスに対し、GLE (60 mg/kg/day) +PIB (24 mg/kg/day) を 4 週間併用投与したところ、野生型 HCV 感染マウスでは 3 頭すべてで HCV 排除が得られたが、変異型 HCV 感染マウスでは 4 頭すべてにおいて、薬剤投与中、血中 HCV は陽性が持続し、再上昇が生じた。

NS3-D168V+NS5A-P32del 変異型 HCV に対する新規治療の探索として、変異型 HCV 感染マウスに対し、GLE/PIB+に SOF (NS5B ポリメラーゼ阻害薬) を併用し 4 週間投与したところ、4 頭すべてで血中 HCV は陰性化し、3 頭において HCV 排除が得られた。

【結論】 DCV/ASV/BCV は、DAA 未治療患者において一定の有効性を示す一方で、DAA 前治療不成功例に対する治療効果は低かった。NS5A-P32del は DAA 不成功例の 4.3% に出現し、これらの患者に対する GLE/PIB 療法の効果は低い。NS5a-P32del を有する患者に対し、GLE/PIB+SOF 療法は、有効な治療法になる可能性が示された。