

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 | 寺岡 雄吏 |
| 学位授与の条件  | 学位規則第4条第①・2項該当 |    |       |
| 論文題目<br>Association between resistance-associated NS5A variants of hepatitis C virus and efficacy of direct-acting antivirals in human hepatocyte transplanted mice<br>（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）<br>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<br>（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）<br>② Limitations of daclatasvir/asunaprevir plus beclabuvir treatment in cases of NS5A inhibitor treatment failure<br>（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/ベクラブビル治療の問題点について）  |                |    |       |
| 論文審査担当者  |                |    |       |
| 主査教授   | 大段 秀樹          | 印  |       |
| 審査委員教授   | 坂口 剛正          |    |       |
| 審査委員教授   | 浅野 知一郎         |    |       |
| 〔論文審査の結果の要旨〕   |                |    |       |
| <p>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い、臨床例との対比検討を行った。</p> <p>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。</p> <p>まず、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 治療不成功例に生じた NS5A-L31M/Y93H+NS3-D168A 薬剤耐性変異型 HCV 感染マウスに対し、DCV（20</p> |                |    |       |

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) のうち3例では治療終了後にウイルス再燃し、このうち 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年に認可された 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。広島大学病院および関連施設 (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頭すべてのマウスで投与終了時に血中 HCV は陰性化し、3頭において HCV 排除が得られた。

以上の結果から、DCV/ASV/BCV はマウスで予測されたとおり、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。また、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 療法の効果は低いことが明らかになった。本論文は、ヒト化マウスモデルで DCV/ASV/BCV の治療限界を示し、難治性の NS5a-P32del を有する患者に対し GLE/PIB+SOF 療法が有効な治療法になる可能性を示したことで高く評価される。

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。