

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	大沢 光毅
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目			
<p>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)</p> <p>①Real-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)</p> <p>②Efficacy 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)</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 教授	大 段 秀 樹		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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 (GT) 1b 型の 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。</p> <p>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) の判定がなされた 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。</p> <p>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</p>			

燃し、SVR12は28例で得られた。内訳はGT1bのNS5A-A92K変異の2例、GT2a、GT3の症例は全例SVRが得られ、肝線維化進展例は18例存在したが、いずれも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1:1、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(1:1)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頭はP32欠失を有し、そのうち4頭で150番目の塩基にアミノ酸の変化を伴わない変化(T→C)を認めるのみで、それ以外の塩基配列は感染源のP32欠失を有するHCVと全く同一であった。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。

これらのことより、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抵抗性の変異であると考えられた。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。

以上の結果から、本論文はGLE/PIB治療に対する耐性変異を有する症例の治療に関する貴重な情報を提供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した。