

# 論文内容要旨

Ribavirin induces hepatitis C virus genome mutations in chronic hepatitis patients who failed to respond to prior daclatasvir plus asunaprevir therapy

(リバビリンは、ダクラタスビル+アスナプレビル療法不成功例においても、C型肝炎ウイルスのゲノム変異を誘導する)

Journal of Medical Virology, doi: 10.1002/jmv.25602, 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

(医系科学研究科 内視鏡医学)

副指導教員：相方 浩 准教授

(医系科学研究科 消化器・代謝内科学)

齊藤 裕平

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景】C型慢性肝炎は、肝硬変や肝細胞癌の原因となり、最も有効な治療はC型肝炎ウイルス(HCV)の排除である。2014年以降、本邦でHCVの非構造領域(non-structural region: NS region)を標的としたdirect-acting-antiviral(DAA)の組み合わせによる治療が行われているが、薬剤耐性(resistant associated variants: RAVs)の出現が問題である。DAA治療歴の無い患者に対するソフォスブビル+レディパスビル療法のウイルス排除(sustained virological response: SVR)率は高率であるが、ダクラタスビル+アスナプレビル療法の不成功例では、RAVsの出現のため、SVR率は約57%と低値である。ダクラタスビル+アスナプレビル療法の不成功例に対して、治療反応性を向上させるために、広島肝臓研究グループにおいて、ソフォスブビル+レディパスビル療法にリバビリン治療を併行して12週間投与を行う臨床試験が行われた。この試験では、30名のダクラタスビル+アスナプレビル療法の不成功例に対して治療が行われたが、うち15名に対しては、リバビリン先行投与による効果を検討するために、最初の4週間にリバビリン単剤投与を行い、その後12週間のソフォスブビル+レディパスビル+リバビリン療法がおこなわれた。この試験では、87%という高いSVR率が得られ、興味深い事に、リバビリン先行投与群ではSVR率は100%であった。リバビリンは、HCVのNS領域に変異を誘導する事が知られているが、DAA治療不成功例においても、HCVのゲノム変異を誘導するののかについては明らかとなっていない。

【目的】DAA治療不成功C型慢性肝炎例のHCVゲノムにリバビリンが及ぼす影響を明らかにする。

【方法】遺伝子型1bのHCVレプリコン細胞(c-FeO)に、各種濃度のリバビリンを120時間追加した。回収した細胞からRNAを抽出、逆転写後、HCVの非構造領域(nt3493~9301)をPCRで増幅し、次世代シーケンサー(Illumina Mi-Seq)を用いたdeep sequenceによりゲノム変異を検討した。ダクラタスビル+アスナプレビル療法不成功例に対するソフォスブビル+レディパスビル+リバビリン療法試験において、リバビリンを先行投与した15名のうち、リバビリン投与開始4週間前、投与直前、投与開始後4週間時点の、3ポイントの血清が保存されていた6名の患者血清から、HCV RNAを抽出し、無治療期間の4週間と、リバビリン単剤投与期間の4週間でのHCVゲノム変異を次世代シーケンサーを用いたdeep sequenceによって得られたraw dataをdeepSNV softwareを用いて解析し、比較検討した。

【結果】リバビリンはHCVレプリコン細胞において、非構造領域の全体的な変異数を容量依存性に増加させ、さらにG-to-AおよびC-to-U変異の割合を用量依存性に増加させた。リバビリンを4週間単剤投与したダクラタスビル+アスナプレビル不成功例のC型肝炎6例では、リバビリン投与開始前時点で、direct sequenceにて全例にダクラタスビル耐性変異であるNS5A-Y93H変異を認め、6例中5例にはさらにNS5A-L31変異も認めていた。ダクラタスビル高度耐性であるNS5A-P32欠損は、いずれにも認められなかった。リバビリンの4週間単剤投与により、血中HCV RNA中央値は、 $6.3 \pm 0.3$  から  $6.0 \pm 0.4$  log と有意に低下した ( $p < 0.05$ )。

無治療期間およびリバビリン投与期間の、HCV NS 領域におけるゲノム変異数は、6 例全体でそれぞれ 0.042、0.031/塩基であり、同程度であった ( $p = 0.248$ )。しかし、全体の変異における G-to-A および C-to-U 変異の割合は、無治療期間に比べ、リバビリン単独投与期間において全例で高く、平均値は G-to-A 変異 (17.0% vs 21.0%)、C-to-U 変異 (28.0% vs 34.1%) といずれにおいてもリバビリン投与期間において有意に増加していた ( $p < 0.05$ )。さらに変異率を NS 領域別に検討したところ、リバビリン投与による G-to-A および C-to-U の変異率は、特に NS3 領域において増加していた。

**【結語】** ダクラタスビル+アスナプレビル療法不成功例においても、リバビリンは HCV NS 領域の G-to-A および C-to-U 変異を誘導すること、さらにこれら変異は特に NS3 領域において強く誘導されることを明らかにした。ダクラタスビル+アスナプレビル療法不成功例に対する、ソフォスブビル+レディパスビル+リバビリン療法では、この作用によって、より高い抗ウイルス効果を発揮している可能性が示された。