

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	齊藤 裕平
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 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）</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 上 村 健一郎</p>			
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>C 型慢性肝炎は、肝硬変や肝細胞癌の原因となるため C 型肝炎ウイルス（HCV）の排除が必要である。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、薬剤耐性株（resistance-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%と低率である。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、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。DAA 不成功例の HCV ゲノムに、リバビリンが及ぼす影響を明らかにすることを目的として研究を行った。</p> <p>遺伝子型 1b の HCV レプリコン細胞（c-Fe0）に、各種濃度のリバビリンを 120 時間添加した。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 sequencing 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</p>			

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、リバビリン単独投与期間の 4 週間での HCV ゲノム変異を同様に解析し、得られた raw data を deepSNV software を用いて解析し、比較検討した。

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 週間単独投与したダクラタスビル+アスナプレビル不成功例の C 型慢性肝炎 6 例では、リバビリン投与開始前時点で、direct sequencing 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 週間単独投与により、血中 HCV RNA 中央値は 6.3 ± 0.3 から 6.0 ± 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。

以上の結果から、本論文はダクラタスビル+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+リバビリン療法におけるリバビリンの役割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。