

Title	Baseline quasispecies selection and novel mutations contribute to emerging resistance-associated substitutions in hepatitis C virus after direct-acting antiviral treatment
Author(s)	甲斐, 優吾
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/69409
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 甲斐 優吾		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 竹原 徹也
	副 査	大阪大学教授 下村 伊一郎
	副 査	大阪大学教授 上田 啓次

論文審査の結果の要旨

C型肝炎の治療の中心は直接作用型抗ウイルス薬（DAA）であるが、非著効例における耐性変異の出現が問題となる。本論文は、DAA治療により誘導される耐性変異の出現機序を明らかにすることを目的とした。実臨床における非著効例の解析のみならず、ヒト肝細胞キメラマウスというHCVに感染可能な動物モデルを用い検討を行った。変異検索のためのディープシーケンスでは、関心領域を直列的に解析し、単独変異や二重変異の有無という点にまで踏み込んだ手法を用いた。さらに系統樹解析を用いて耐性変異の起源を詳細に探索した。これらの解析により、DAA非著効後の耐性変異の出現には治療前にもともと存在する変異ウイルスが選択される機序と、新規変異が獲得される機序の両方が存在することを証明した。この内容には新規性があり、また耐性変異を誘導させずに適切にDAA治療を行っていくために重要な知見で意義が高いと考えられることから、本論文は学位論文に値するものと考えられる。

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	甲斐 優吾
論文題名 Title	Baseline quasispecies selection and novel mutations contribute to emerging resistance-associated substitutions in hepatitis C virus after direct-acting antiviral treatment (C型肝炎ウイルスに対する直接作用型抗ウイルス薬治療後の耐性変異出現には、治療前のクワシスピーシーズからの変異ウイルス選択と新規変異獲得の両方が関与する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>C型肝炎ウイルス (HCV) は約9600塩基の一本鎖RNAをゲノムとして持ち、宿主一個体において単一のクローンではなく密接に関連したゲノム多様性 (クワシスピーシーズ) を有することが知られている。近年、C型肝炎ウイルス (HCV) に対する直接作用型抗ウイルス薬 (DAA) が開発され、著効率は大きく向上した。一方、非著効例ではHCVゲノム非構造領域NS5AにおいてL31M/VやY93Hといった耐性変異が高率に出現する。とくに、NS5A L31M/V-Y93Hの二重変異はNS5A阻害薬に高度耐性を示し、DAA再治療にも抵抗性を示すなど臨床上問題となるが、このような耐性変異出現機序は不明である。そこでディープシーケンスを用いてHCV変異を解析し、系統樹解析を用いて耐性変異ウイルス出現機序を検討した。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>当院ならびにOsaka Liver Forum関連施設において、NS3阻害薬であるアスナプレビル (ASV) とNS5A阻害薬であるダクラタスビル (DCV) の併用治療で非著効となったC型慢性肝炎患者で、治療前後でNS5A L31とY93を同一アンプリコン上で解析し得た11例のうち、10例で治療後にメジャークローンとしてL31M/V-Y93Hの二重変異を認めた。このうち6例において治療前にマイナークローンとしてL31M/V-Y93H二重変異が存在していた。系統樹を用いて治療後の二重変異HCVの由来を解析したところ、治療前に存在した二重変異HCVが増殖したと判定される症例が4例であった。また、Y93H単独変異やL31-Y93野生型HCVに新たに変異が加わり二重変異となったと判定される症例が6例であった。</p> <p>L31/Y93変異のないDAA未治療C型慢性肝炎患者血清をヒト肝細胞キメラマウスに静脈内接種すると持続感染が成立した。このHCV感染キメラマウスにNS5A阻害薬であるレジバスピルとNS5B阻害薬であるソホスビル類似薬を4週間併用投与するとマウス血中のHCVは一旦陰性化した但其後再燃を認めた。再燃早期にはメジャークローンとしてのY93H単独変異HCVとマイナークローンとしてのL31V-Y93H二重変異HCVの共存を認め、その4週後に二重変異は検出感度以下となりY93H単独変異が99%を占めた。その後このマウスにASV/DCVを4週間併用投与すると、再びHCVは陰性化した但其後再燃を認め、このときL31V-Y93H二重変異HCVが高率に誘導された。系統樹解析から、検出感度以下に低下した二重変異HCVではなく直前のY93H単独変異HCVがASV/DCV投与後の二重変異HCVの由来であることが示された。</p> <p>DAA治療中に生体内で新たな変異が生まれ出されることを検証するため、野生型フルゲノムHCV RNAを直接キメラマウスの肝臓に接種してシングルクローンHCV 感染マウスを作成した。このマウスにDCV単剤を4週間投与するとウイルスは陰性化せず、投与前はすべて野生型であったが治療後に高率のY93H変異が新規に出現した。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>DAA治療後の耐性変異出現には治療前のクワシスピーシーズに存在する変異HCVが選択的に増殖する機序と、DAA治療中の新規変異獲得による機序の両方が寄与していることが示された。</p>	