

C型肝炎治療～ DAAs で広がる治療対象～  
Direct Acting Antivirals

定価 (本体 4,800 円 + 税)

2014年12月15日初版発行

編者 熊田 博光  
茶山 一彰  
豊田 成司  
発行者 沼田 稔

発行所 株式会社 医薬ジャーナル社  
〒541-0047 大阪府中央区淡路町3丁目1番5号・淡路町ビル 21  
TEL 06-6202-7280  
〒101-0061 東京都千代田区三崎町3丁目3番1号・TKiビル  
TEL 03-3265-7681  
<http://www.iyaku-j.com/>  
振替口座 00910-1-33353

乱丁、落丁本はお取りかえいたします。  
ISBN978-4-7532-2710-5 C3047 ¥4800E

本書に掲載された著作物の翻訳・複写・転載・データベースへの取り込みおよび送信に関する著作権は、小社が保有します。

・JCOPY<(社)出版者著作権管理機構 委託出版物>

小社の全雑誌、書籍の複写は、著作権法上の例外を除き禁じられています。小社の出版物の複写管理は、(社)出版者著作権管理機構(JCOPY)に委託しております。以前に発行された書籍には、「本書の複写に関する許諾権は外部機関に委託しておりません。」あるいは、「(株)日本著作出版権管理システム(JCLS)に委託しております。」と記載しておりますが、今後においては、それら旧出版物を含めた全てについて、そのつど事前に(社)出版者著作権管理機構(電話 03-3513-6969, FAX 03-3513-6979)の許諾を得てください。

本書を無断で複製する行為(コピー、スキャン、デジタルデータ化など)は、著作権法上での限られた例外(「私的使用のための複製」など)を除き禁じられています。大学、病院、企業などにおいて、業務上使用する目的(診療、研究活動を含む)で上記の行為を行うことは、その使用範囲が内部的であっても、私的使用には該当せず、違法です。また私的使用に該当する場合であっても、代行業者等の第三者に依頼して上記の行為を行うことは違法となります。

本書の内容については、最新・正確であることを期しておりますが、薬剤の使用等、実際の医療に当たっては、添付文書でのご確認など、十分にご注意をお願い致します。株式会社 医薬ジャーナル社

**第2章 C型肝炎の治療**

**4 DAAsによるIFNフリー療法 (IFN free regimen)**

ポイント	<ul style="list-style-type: none"> <li>□プロテアーゼ阻害薬(アスナプレビル)は、セリンプロテアーゼを直接阻害することにより、ウイルスゲノムの複製やウイルス粒子形成に必要なウイルス蛋白の産生を抑制し、ウイルス増殖を強かに阻害する。</li> <li>□NS5A 阻害薬(ダクラタスビル)は、NS5A 蛋白を標的とする低分子阻害薬であり、ウイルス増殖抑制に大きな効果が期待されている DAA (direct acting antiviral) 製剤のひとつである。</li> <li>□NS5A 阻害薬であるダクラタスビルとプロテアーゼ阻害薬であるアスナプレビル併用療法 24 週間投与の国内第Ⅲ相試験では、Genotype 1 型高ウイルス量症例に対して 85%の SVR(sustained virological response) 率であった。</li> <li>□ダクラタスビルとアスナプレビル併用療法は、前治療 non-responder や Peg-IFN と RBV 併用療法不適格または不耐容例に同等の治療効果を認めていた。また IL28B の遺伝子多型には、関係なく高い効果を認め、さらに副作用は少なく、高い忍容性を認めていた。</li> <li>□将来的には、ポリメラーゼ阻害薬を含めた新たな治療薬も使用できる可能性があり、その効果が期待されている。</li> </ul>
------	---



**はじめに**

C型肝炎ウイルスに対する治療薬は、近年飛躍的に進歩してきている。特にウイルス蛋白を直接標的に開発された direct acting antivirals (DAAs) の登場により、C型肝炎の治療は高い効果とともに、より副作用が少ない治療へと変化してきている。

米国の臨床試験登録ウェブサイトである [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) には、多数の DAA 製剤および関連す

る薬剤による臨床試験が登録されている。多種類の候補薬剤が開発され臨床試験が進んでいるが、図1に示す如く(NS3)プロテアーゼ阻害薬、NS5A阻害薬、(NS5B)ポリメラーゼ阻害薬が治療の中心となっている。表1に現在の主な薬剤を提示している。臨床使用が可能になった第一世代のプロテアーゼ阻害薬(Telaprevir, Boceprevir)に続き、副作用が少ない第二世代のプロテアーゼ阻害薬(Simeprevir, Vaniprevir, Faldaprevir, Asunaprevir, ABT-450など)の臨床試験が進行し、日本ではテラプレビル、シメプレビル、アスナプレビル、バニプレビルが保険適用となっている。さらにNS5A領域への低分子阻害剤やポリメラーゼ阻害薬も開発され、その強力な抗ウイルス効果が注目されている。これらのDAA製剤は、単剤では十分な効果が得られなかったが<sup>1, 2)</sup>、異なる作用機序のDAA製剤を併用することにより、インターフェロン(IFN)の効果が低いGenotype 1型や前治療無効例に対しても高い効果が認められている。

本稿では、これらDAA製剤のうちIFNフリー療法について、現在までの治療成績を踏まえ述べる。

## I 新規 DAAs の作用機序

### 1 プロテアーゼ阻害薬

DAAは、HCVの蛋白を標的とした治療薬であり、その強力な抗ウイルス作用から現在C型肝炎治療の重要な治療薬となっている。中でもウイルス増殖に必要な酵素を活性化するカスケードの反応に必要なプロテアーゼの活性化を抑制するプロテアーゼ阻害薬は重要な治療薬である。HCVの非構造蛋白領域NS3-4A蛋白は、NS3とその補因子であるNS4Aより構成される非共有結合複合体である。NS3は70KDaの多機能蛋白であり、そのN末端3分の1(アミノ酸[aa]1-180)にセリンプロテアーゼ領域を含んでいる。セリンプロテアーゼは、非構造蛋白領域NS3-5蛋白間の切断を順序立てて行っている蛋白質分解酵素である。プロテアーゼ阻害薬は、このセリンプロテアーゼを直接阻害することにより、ウイルスゲノムの複製やウイルス粒子形成に必要なウイルス蛋白の産生を抑制し、ウイルス増殖を強力に阻害する。

プロテアーゼ阻害薬はその構造と耐性変異のパターンから2群に分けられている。分岐のない直鎖状の分子構造をとる第一世代のプロテアーゼ阻害薬と、分子内に環状構造(macrocyclic)または分岐構造をもつ第二世代のプロテアーゼ阻害薬である。第二世代のプロテアーゼ阻害薬は貧血や皮疹などの副作用が少なく、1日1~2回の経口投与で効果が認められる。現在日本では、第一世代のテラプレビルと第二世代のシメプレビルとバニプレビルがペグインターフェロン(Peg-IFN)とリバビリン(RBV)との併用療法で保険適用となっている(別章参照)。さらにアスナプレビルはダクラタスビルとの併用療法で保険適用になった。またfaldaprevir, ABT-450の2剤は国内外でIFN併用または非併用で治験が行われている。

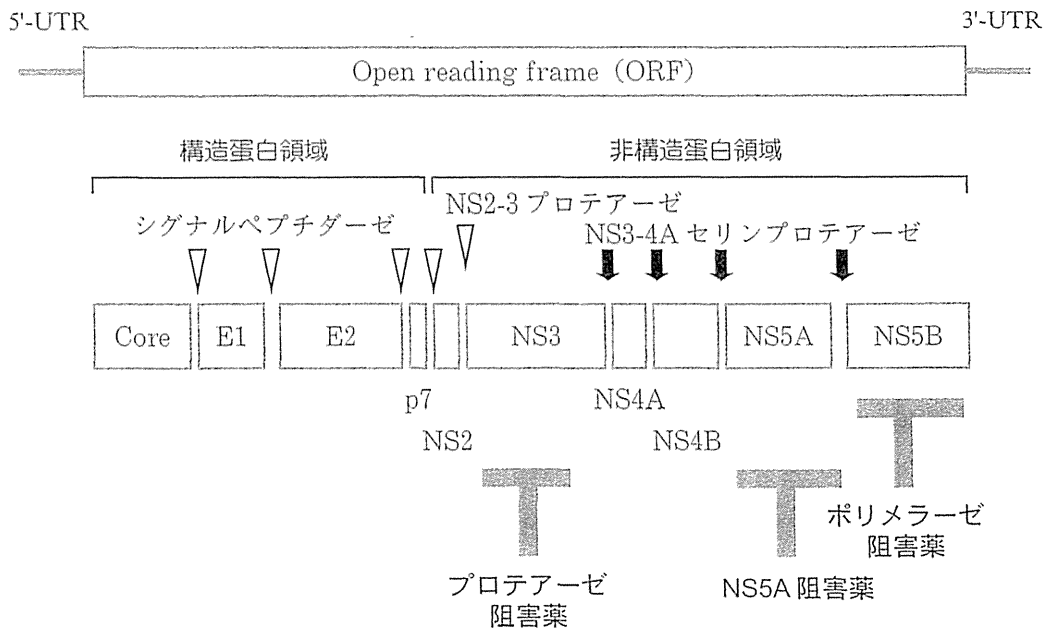


図1 HCV ゲノムの構造と DAAs (direct acting antivirals)

DAAs の作用する場所を示す。

(筆者提供)

表1 C型肝炎に対する新たな治療薬 (direct acting antivirals ; DAAs)

プロテアーゼ阻害薬		ポリメラーゼ阻害薬	
Linear	Telaprevir (承認) Boceprevir	核酸型	GS-7977 (Sofosbuvir) RG7128 (Mericitabine) IDX-184 PSI-938
Macrocyclic	Simeprevir (承認) Asunaprevir (承認) MK7009 (Vaniprevir) (承認) BI201335 (Faldaprevir) ABT-450 GS-9451, GS-9256 MK5172		
NS5A 阻害薬			
第一世代	Daclatasvir (承認) ABT-267 GS-5885 (Ledipasvir) BMS824393 AZD7295 PPI-461, PPI-668		
第二世代	ACH-3102, MK8742, GS-5816, EDP239		

プロテアーゼ阻害薬, NS5A 阻害薬, ポリメラーゼ阻害薬が治療の中心である。

(筆者提供)

## 2 NS5A 阻害薬

HCV の非構造蛋白領域 NS5A は、447 アミノ酸残基からなるリン酸化蛋白をコードする領域である。この領域には、N末端寄り 1/3 の Domain 1 に陽性荷電した RNA 結合領域が存在していることや、IFN 治療の効果に関係する Interferon sensitivity determining region (ISDR; aa2209-2248) や IFN と RBV の効果に関係する IFN/RBV resistance-determining region (IRRDR; aa2334-2379) が存在している。NS5A の機能については十分に判明されていないが、ウイルス RNA 複製に重要な役割を果たしているものと考えられている。とくに HCV の粒子形成においてコア蛋白と NS5A 蛋白が相互作用することが推定されている。

NS5A 阻害薬は低分子阻害薬であり、ウイルス増殖抑制に大きな効果が期待されている。ダクラタスビルは、クラス初の高選択性の NS5A 複製複合体阻害薬であり、ピコモル濃度で効力を示すほか、種々の Genotype に対して作用を示す。このダクラタスビルは健常人と HCV 感染者での血中薬物動態の検討から 1 日 1 回 10 mg 以上の内服にて十分な抗ウイルス効果を得られる薬物濃度を維持できることが示されている<sup>3)</sup>。この領域の薬剤の開発も進み、現在日本では、ダクラタスビル、ABT-267、Ledipasvir の治験が IFN 併用または非併用で行われている。さらに NS5A 阻害薬の耐性変異である L31V、Y93H を認めるウイルス株にも効果を保持する第二世代の NS5A 阻害薬の臨床開発も進んでいる。

## 3 ポリメラーゼ阻害薬

NS5B-RNA 依存性 RNA ポリメラーゼを標的とした薬剤で、核酸型と非核酸型に分けられる。核酸型はウイルス RNA 合成の基質として NS5B ポリメラーゼに取り込まれ、chain termination をおこし、ウイルスの増殖を阻害する。核酸型ポリメラーゼ阻害薬は耐性変異を生じにくく、複数の Genotype に対して効果が認められる。一方、非核酸型は、NS5B の触媒ドメインに結合しポリメラーゼ活性を阻害する。この非核酸型ポリメラーゼ阻害薬はそれぞれポリメラーゼの異なるエピトープを標的としている。このため薬剤耐性も固有の耐性を認めている。非核酸型は主として Genotype 1 型を標的に開発されている。現在日本では、核酸型の sofosbuvir の治験が行われているが、海外では非核酸型の治療薬の治験も行われている。

## II

### 国内外での治療成績

現在は IFN 非併用下で作用部位の異なる複数の DAAs を組み合わせる臨床試験が行われている (IFN フリー DAA 併用療法)。この際、DAAs と RBV を併用する臨床試験も行われている。世界的には図 2 に示すような組合せで IFN フリー DAA 併用療法が行われている。このような IFN フリー DAA 併用療法の優れている点は、IFN/RBV の併用療法での無効例 (non-responder)、高齢

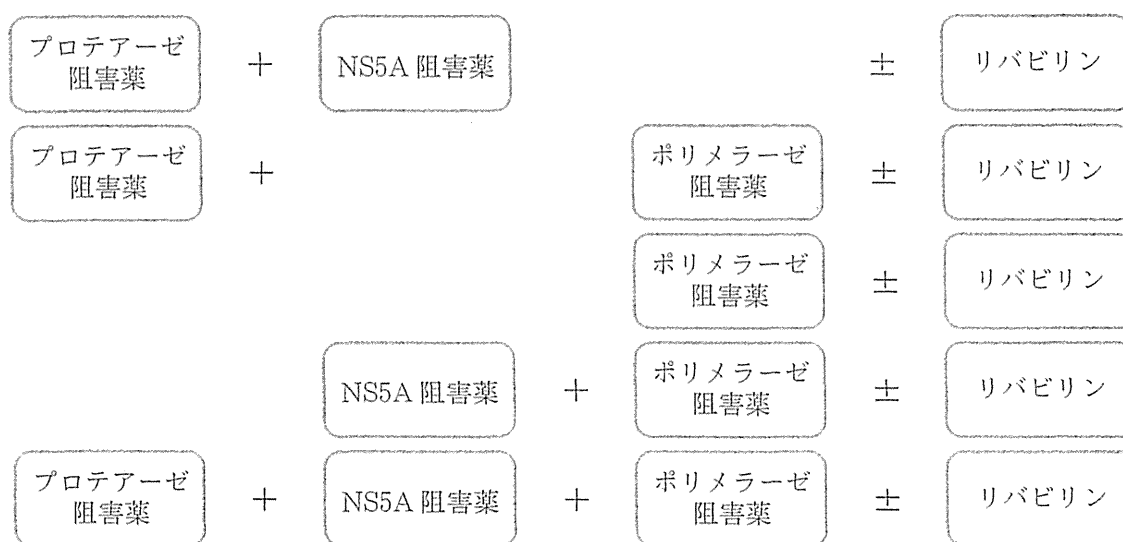


図2 DAAs を用いた治療プロトコル（インターフェロン非併用）

プロテアーゼ阻害薬，NS5A 阻害薬，ポリメラーゼ阻害薬のリバビリン併用または非併用での治療が行われている。

（筆者提供）

者や合併症があるために IFN の使用できない不適格例さらに IFN の不耐容例に対しても使用できるとともに，高い有効率を認め副作用が少ないことである。

## 1 米国でのアスナプレビル/ダクラタスビル併用療法

他の DAAs と同様にアスナプレビル単剤またはダクラタスビル単剤での効果は十分でないため，併用療法が行われている。Lok A らは，米国において前治療 Peg-IFN / RBV 治療で null responder であった Genotype 1 型の 21 例に対してダクラタスビル / アスナプレビル併用療法を行った 11 例 (group A) とダクラタスビルとアスナプレビルに Peg-IFN / RBV 治療を併用した 10 例 (group B) の成績を報告している<sup>4)</sup>。治療期間はいずれも 24 週間であった。Group A では，11 例中 4 例が sustained virological response (SVR) になった。Genotype 別では Genotype 1a では 9 例中 2 例の SVR であったが，Genotype 1b では 2 例とも SVR になった。一方，group B では，10 例中 9 例が SVR になった。この結果から，Genotype 1b は，Genotype 1a よりもダクラタスビル / アスナプレビル併用療法が有効な治療になることが示された。

## 2 日本でのアスナプレビル/ダクラタスビル併用療法

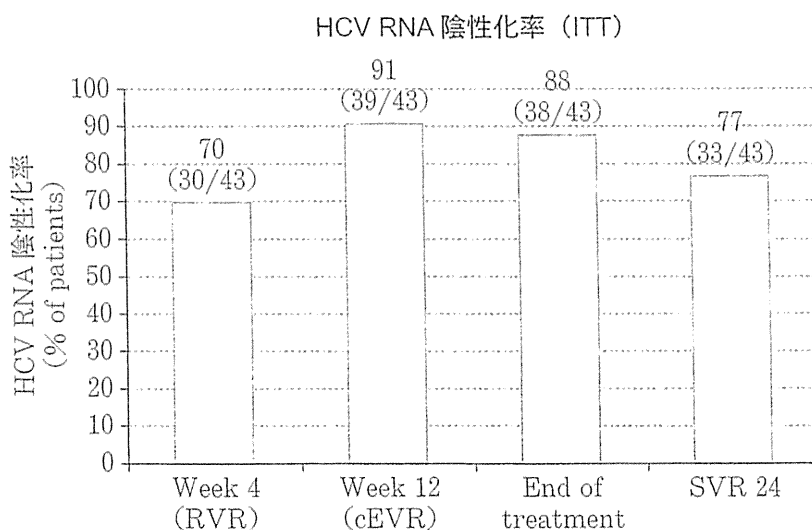
日本では，第Ⅱ相の治験としてダクラタスビル / アスナプレビル併用療法 24 週間投与の治験が行われた<sup>5-7)</sup>。この治験ではまず，前治療無効例 (IFN / RBV 用療法) の null responder 10 例で安全性評価の試験を行い，続いて前治療無効例で追加試験 11 例および Peg-IFN / RBV 併用療法不適格

表2 ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法施行例の背景 (第II相試験)

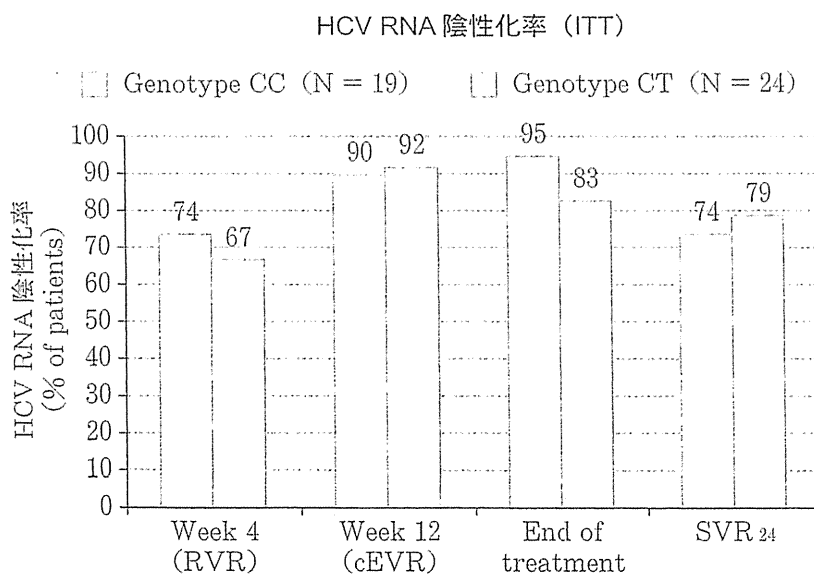
	Null responders	Peg-IFN/RBV 不適格, 不耐容例
症例数	21	22
年齢, 中央値 (レンジ)	61 (31-70)	58 (45-75)
性別, 男 / 女	8/13	6/16
HCV genotype 1b	21	22
IL28B genotype (rs 12979860)		
CC	3	16
CT	18	6
HCV RNA, 中央値 (SD)	6.8 (0.47)	6.6 (0.64)
ALT, 中央値 (SD)	57.9 (24.86)	45.7 (25.79)
Peg-IFN/RBV ineligible		18
Peg-IFN/RBV intolerant		4

Null-responder 群と Peg-IFN/RBV 不適格, 不耐容例の背景を示す。

または不耐容 22 例での試験を行った。投与量は、ダクラタスビル 60 mg を 1 日 1 回、アスナプレビル 200 mg を 1 日 2 回 24 週間投与した。対象症例の背景は、null responder 群 21 例、IFN/RBV 併用療法不耐容または不適格例群 22 例でそれぞれ年齢 61 歳、68 歳、性別 (男 / 女) 8/13、6/16、IL28B genotype (rs12979860) (CC/CT) 3/18、16/6、HCV RNA 量 (Log IU/mL) 6.8、6.6 であった (表 2)。全症例の抗ウイルス効果では、治療開始後の陰性化率は 4 週目 (RVR) 70%、12 週目 (cEVR) 91%、24 週目または治療終了時 (EOT) 88%、治療終了後 4 週目 (SVR4) 81%、治療終了後 12 週目 (SVR12) 77%、治療終了後 24 週目 (SVR24) 77% であった (図 3)。治療中に陰性化したウイルスの再上昇を認めた症例 (ウイルス学的 breakthrough) は 3 例、治療終了後にウイルスの再燃を認めた症例は 4 例であった。Null responder 群、IFN/RBV 併用療法不耐容または不適格例群では、治療開始後の陰性化率はそれぞれ 4 週目 (RVR) 52%、86%、12 週目 (cEVR) 91%、91%、24 週目または治療終了時 (EOT) 91%、86%、治療終了後 12 週目 (SVR12) 91%、64%、治療終了後 24 週目 (SVR24) 91%、64% であった。Null responder 群、IFN/RBV 併用療法不耐容または不適格例群では SVR 率が null responder 群で高かったが、統計学的な差は認めなかった。また IFN の治療効果に関する IL28B の Genotype 別では、CC 群と CT 群で治療開始後の陰性化率はそれぞれ 4 週目 (RVR) 74%、67%、12 週目 (cEVR) 90%、92%、24 週目または治療終了時 (EOT) 95%、83%、治療終了後 12 週目 (SVR12) 74%、79%、治療終了後 24 週目 (SVR24) 74%、79% であった (図 4)。IL28B の Genotype 別では、両群間に差を認めなかった。このようにダクラタス



ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法の抗ウイルス効果 (第II相試験) (1)  
 HCV RNA 陰性化率をITTで示した。  
 End of treatment : 24 週間治療終了時および中止時  
 ITT : intention to treat analysis, SVR : sustained virological response



ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法の抗ウイルス効果 (第II相試験) (2)  
 HCV RNA 陰性化率 : IL28B Genotype 別で陰性化率に差を認めなかった。

ビル/アスナプレビル併用療法は、IFN/RBV併用療法の治療困難例である null responder 症例やインターフェロンの使用できない不耐容または不適格例にも高い効果を認めていた。さらにインターフェロンの治療効果に関係する IL28B の Genotype にも関係なく高い効果を認めた。一方ダク



表 3 ダクラタスビル / アスナプレビル併用療法施行例の背景 (第Ⅲ相試験)

	non-responders	Peg-IFN/RBV 不適格, 不耐容例
症例数	87	135
年齢, 中央値 (レンジ)	60 (40-74)	64 (24-75)
性別, 男 / 女	39/48	38/97
肝硬変例	11	11
IL28B Genotype (rs12979860)		
CC	16	94
CT	66	40
TT	5	1
HCV RNA, 中央値 (SD)	6.8 (0.47)	6.6 (0.58)
Peg-IFN/RBV ineligible		100
Peg-IFN/RBV intolerant		35

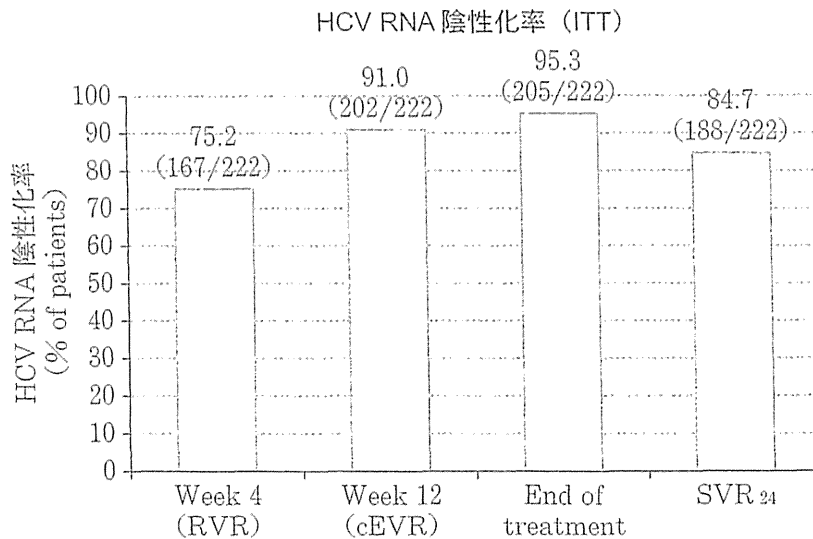
Non-responder 群と Peg-IFN/RBV 併用療法不適格, 不耐容例の背景を示す。

(文献 8 より)

ラタスビル / アスナプレビル併用療法の中止例は 3 例 (ビリルビン上昇, ALT 値上昇)であったが, そのほかの副作用は軽微なものが大半であり, 両薬剤の忍容性は保たれていた<sup>5,7)</sup>。

一方, ダクラタスビル / アスナプレビル併用療法の治療不成功例では, 治療後の HCV 遺伝子解析で両剤に対する耐性ウイルスの出現が報告されている<sup>6,7)</sup>。プロテアーゼ阻害薬であるアスナプレビルの耐性変異としては D168A/E/V が認められ, NS5A 阻害薬であるダクラタスビルの耐性変異として L31M/V と Y93H が認められている。治療不成功例 7 例中 5 例で治療開始前にダクラタスビルの耐性変異を認めていた。しかし同様の変異を開始前に認めていたが SVR になった症例は 5 例認められた。また, 治療不成功例 7 例では, 治療中のダクラタスビルとアスナプレビルの血漿中のトラフ値が低かったが, 他の SVR 症例でもトラフ値の低い症例が多く認められていた<sup>6)</sup>。

さらに日本では, ダクラタスビル / アスナプレビル併用療法の第Ⅲ相の治験が行われた<sup>3)</sup>。対象症例の背景は, non-responder 群 87 例, IFN / RBV 併用療法不耐容または不適格例群 135 例でそれぞれ年齢 60 歳, 64 歳, 性別 (男 / 女) 39/48, 38/97, IL28B Genotype (rs12979860) (CC/CT, TT) 16/71, 94/41, HCV RNA 量 (Log IU/mL) 6.8, 6.6 であった (表 3)。全症例の抗ウイルス効果では, 治療開始後の陰性化率は 4 週目 (RVR) 75.2%, 12 週目 (cEVR) 91.0%, 24 週目または治療終了時 (EOT) 92.3%, 治療終了後 4 週目 (SVR4) 88.7%, 治療終了後 12 週目 (SVR12) 85.1%, 治療終了後 24 週目 (SVR24) 84.7% であった (図 5)。Non-responder 群, IFN / RBV 併用療法不耐容または不適格例群での治療終了後 24 週目陰性化率 (SVR24) は, それぞれ 80.5%, 87.4% であ



**14.1** ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法の抗ウイルス効果 (第Ⅲ相試験)

HCV RNA 陰性化率を ITT で示した。

End of treatment : 24 週間治療終了時および中止時

ITT : intention to treat analysis, SVR : sustained virological response

(文献 8 より)

た。さらに肝硬変症例では、90.9% (20/22) の SVR<sub>24</sub> であった。また IL28B の Genotype 別では、CC 群と CT, TT 群で治療終了後 24 週目 (SVR<sub>24</sub>) はそれぞれ 84.5%, 84.8% であった。そのほか、年齢、性別、開始時の HCV RNA 量で治療効果に差を認めなかった。治療終了後にウイルスの再燃を認めた症例は non-responder 群, IFN/RBV 併用療法不耐容または不適格例群で、それぞれ 6 例 (7.9%), 11 例 (8.5%) であった。治療中に陰性化したウイルスの再上昇を認めた症例 (ウイルス学的 breakthrough) は non responder 群, IFN/RBV 併用療法不耐容または不適格例群でそれぞれ 10 例 (11.5%), 4 例 (3.0%) であった。また治療終了時 HCV RNA 陽性例がそれぞれ 1 例, 2 例であった。一方、ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法の中止例は 11 例 (5.0%) で AST, ALT 値上昇が 10 例, 重症筋無力症 1 例であった。Grade 3/4 の有害事象は 13 例 (5.9%) で認められたが、鼻咽頭炎、頭痛、発熱などが主であった。Grade 3/4 の ALT 値の上昇例では治療後速やかに ALT 値は改善していた。

ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法の第Ⅲ相試験での 34 例の治療不成功例中 29 例で、治療開始前に NS5A 領域の L31M/V または Y93H のアミノ酸変異が認められていた。また治療前に NS5A 領域の L31M/V または Y93H のアミノ酸変異が認められていた 37 例では、non-responder 群 14 例中 4 例が SVR<sub>24</sub> になり、IFN/RBV 併用療法不耐容または不適格例群 23 例では 11 例が SVR<sub>24</sub> になった。治療開始時 NS3 領域の D168E のアミノ酸変異を認めた症例は 2 例であったが、1 例が SVR になった。一方、治療薬のコンプライアンスの検討では、95% 以上のコンプライアンスで SVR<sub>24</sub> は 92.7% (179/193) であったが、95% 未満では 31.0% (9/29) であった。しかし 95%

未満のコンプライアンスであった 29 例中 15 例は効果不十分での中止例であった。

さらに最近欧米, アジア (台湾, 韓国), オーストラリアなどを中心に行われたダクラタスビル / アスナプレビル併用療法第Ⅲ相試験の成績が報告された<sup>9)</sup>。Genotype 1b 型の C 型慢性肝炎および肝硬変症例を対象として行われたこの臨床研究では, naive 例で 90% (182/205), 前治療 Peg-IFN / RBV の non-responder 例で 82% (168/205), IFN / RBV 併用療法不耐容または不適格例で 82% (192/235) の SVR 率であったと報告されている。AST・ALT 値上昇による副作用中止例は, 各群でそれぞれ 3%, 1%, 1% であり安全性, 忍容性が保たれていたと報告されている。

### 3) その他の IFN フリー療法

NS5B の核酸アナログ型のポリメラーゼ阻害薬である sofosbuvir と NS5A 阻害薬である ledipasvir やリバビリンを併用した治験の成績も海外から報告されている。Genotype 1 型の naïve の C 型慢性肝炎症例に sofosbuvir と ledipasvir をリバビリン併用または非併用で 12 週間または 24 週間投与した成績が報告されている<sup>10)</sup>。Sofosbuvir と ledipasvir 投与 12 週間群で 99%, リバビリン併用 12 週間群で 97%, sofosbuvir と ledipasvir 投与 24 週間群で 98%, リバビリン併用 24 週間群で 99% の SVR12 率であった。また同様に Genotype 1 型で前治療 Peg-IFN とリバビリン併用療法 (プロテアーゼ阻害薬併用ありの症例も含む) での非著効例に対する sofosbuvir と ledipasvir の治療成績も報告されている<sup>11)</sup>。Sofosbuvir と ledipasvir 投与 12 週間群で 94%, リバビリン併用 12 週間群で 96%, sofosbuvir と ledipasvir 投与 24 週間群で 99%, リバビリン併用 24 週間群で 99% の SVR12 率であった。いずれも重篤な副作用は認めなかったと報告されている。また Genotype 2 型, 3 型に対する sofosbuvir/リバビリンの併用療法では, 12 週間の投与で Genotype 2 型で 93%, 24 週間投与の Genotype 3 型で 85% が SVR12 に達したと報告されている<sup>11)</sup>。

さらに海外ではプロテアーゼ阻害薬である ABT-450, NS5A 阻害薬である ABT-267, 非核酸型 NS5B ポリメラーゼ阻害薬である ABT-333 とリトナビル(r)およびリバビリン併用療法の第Ⅱ相試験<sup>13) 15)</sup>が行われた。ABT-450/r, ABT-333, ABT-267 とリバビリン併用療法 (Aviator study) の成績を示す。Genotype 1 型の naïve と前治療 Peg-IFN とリバビリン併用療法での null response の慢性肝炎症例を対象とした ABT-450/r, ABT-267, ABT-333 とリバビリン併用療法 8 週間, 12 週間, 24 週間投与の治療が行われた<sup>13) 15)</sup> (Phase II b)。すべての治療群では, ABT-450/r が含まれているが, ABT-267, ABT-333 とリバビリン併用群では, naïve 例の 8 週間投与で 88%, 12 週間投与で 96%, 24 週間投与で 90% と高い SVR 率が示されている。同様に前治療 Peg-IFN とリバビリン併用療法での null response の症例でも, ABT-450/r, ABT-267, ABT-333 とリバビリン併用群 12 週間投与で 93%, 24 週間投与で 95% と高い SVR 率であった。また ABT-267, ABT-333 とリバビリンの 3 剤のうち 2 剤と ABT-450 を併用した群においても 83 ~ 89% の SVR 率を認めていた。この臨床試験においても副作用の多くは倦怠感と頭痛であった。このように naïve 例, null responder 症例いずれにおいても 12 週間投与で高い SVR 率を認めている。これらの治療薬での日本

での臨床試験が始まっており、今後の成績が期待されている。

### Ⅲ

## 今後の IFN フリー DAA 併用療法

日本のC型肝炎患者は高齢化してきていることを考えると、将来的にはIFNを使用しない副作用が少なくかつ効果の高いDAAの併用療法がC型肝炎治療の中心になると予測される。ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法は、日本肝臓学会と厚労省のガイドラインにも記載されている<sup>16,17)</sup>プロテアーゼ阻害薬、NS5A阻害薬とポリメラーゼ阻害薬は今後治療の中心的な薬剤になる可能性が高い薬剤であり、今後の臨床試験成績が注目されている。C型肝炎の治療は、その時にできる最善の治療を行っていくことが大切なことである。

(鈴木 文孝)

### 文 献

- 1) Yamada I, Suzuki F, Kamiya N, et al : Safety, pharmacokinetics and resistant variants of telaprevir alone for 12 weeks in hepatitis C virus genotype 1b infection. *J Viral Hepat* 19 : e112-119, 2012.
- 2) Toyota J, Ozeki I, Karino Y, et al : Virological response and safety of 24-week telaprevir alone in Japanese patients infected with hepatitis C virus subtype 1b. *J Viral Hepat* 20 : 167-173, 2013.
- 3) Gao M, Nettles RE, Belema M, et al : Chemical genetics strategy identifies an HCV NS5A inhibitor with a potent clinical effect. *Nature* 465 : 96-100, 2010.
- 4) Lok AS, Gardiner DF, Lawitz E, et al : Preliminary study of two antiviral agents for hepatitis C genotype 1. *N Engl J Med* 366 : 216-224, 2012.
- 5) Chayama K, Takahashi S, Toyota J, et al : Dual therapy with the nonstructural protein 5A inhibitor, daclatasvir, and the nonstructural protein 3 protease inhibitor, asunaprevir, in hepatitis C virus genotype 1b-infected null responders. *Hepatology* 55 : 742-748, 2012.
- 6) Suzuki Y, Ikeda K, Suzuki F, et al : Dual oral therapy with daclatasvir and asunaprevir for patients with HCV genotype 1b infection and limited treatment options. *J Hepatol* 58 : 655-662, 2013.
- 7) Karino Y, Toyota J, Ikeda K, et al : Characterization of virologic escape in hepatitis C virus genotype 1b patients treated with the direct-acting antivirals daclatasvir and asunaprevir. *J Hepatol* 58 : 646-654, 2013.
- 8) Kumada H, Suzuki Y, Ikeda K, et al : Daclatasvir plus asunaprevir for chronic HCV genotype 1b infection. *Hepatology* 59 : 2083-2091, 2014.
- 9) Manns M, Pol S, Jacobson IM, et al : All-oral daclatasvir plus asunaprevir for hepatitis C virus genotype 1b : a multinational, phase 3, multicohort study. *Lancet* 28 July 2014 doi : 10.1016/S0140-6736 (14) 61059-X.
- 10) Afdhal N, Zeuzem S, Kwo P, et al : Ledipasvir and Sofosbuvir for Untreated HCV Genotype 1 Infection. *N Engl J Med* 370 : 1889-1898, 2014.
- 11) Afdhal N, Reddy RK, Nelson DR, et al : Ledipasvir and Sofosbuvir for Previously Treated HCV Genotype 1 Infection. *N Engl J Med* 370 : 1483-1493, 2014.
- 12) Zeuzem S, Dusheiko GM, Salupere R, et al : Sofosbuvir and Ribavirin in HCV Genotypes 2 and 3. *N Engl J Med* 370 : 1993-2001, 2014.
- 13) Poordad F, Lawitz E, Kowdley KV, et al : Exploratory study of oral combination antiviral therapy for hepatitis C. *N Engl J Med* 368 : 45-53, 2013.
- 14) Asselah T : ABT-450 combined with ritonavir, in addition to ABT-333 and ribavirin : A race for an

- interferon-free regimen to cure HCV infection. *J Hepatol* 59 : 885-888, 2013.
- 15) Kowdley KV, Lawitz E, Poordad F, Cohen DE, Nelson D, Zeuzem S, et al : Safety and efficacy of interferon-free regimens of ABT-450/R, ABT-267, ABT- 333 ± ribavirin in patients with chronic HCV GT1 infection : results from the aviator study. *J Hepatol* 58 : A3, 2013.
  - 16) 平成 25 年度厚生労働省厚生科学研究費肝炎等克服緊急対策研究事業(肝炎分野)科学的根拠に基づくウイルス性肝炎診療ガイドラインの構築に関する研究班「平成 26 年 B 型 C 型慢性肝炎・肝硬変治療のガイドライン」. [www.vhfj.or.jp/04.support/pdfdir/h26guideline.pdf](http://www.vhfj.or.jp/04.support/pdfdir/h26guideline.pdf)
  - 17) 日本肝臓学会編 : C 型肝炎治療ガイドライン (第 3 版). 2014 年 9 月.  
[http://www.jsh.or.jp/medical/guidelines/jsh\\_guidlines/hepatitis\\_c](http://www.jsh.or.jp/medical/guidelines/jsh_guidlines/hepatitis_c)

## Original article

# A randomized trial of daclatasvir with peginterferon alfa-2b and ribavirin for HCV genotype 1 infection

Fumitaka Suzuki<sup>1\*</sup>, Joji Toyota<sup>2</sup>, Kenji Ikeda<sup>1</sup>, Kazuaki Chayama<sup>3</sup>, Satoshi Mochida<sup>4</sup>, Norio Hayashi<sup>5</sup>, Hiroki Ishikawa<sup>6</sup>, Hidetaka Miyagoshi<sup>6</sup>, Wenhua Hu<sup>7</sup>, Fiona McPhee<sup>2</sup>, Eric A Hughes<sup>8</sup>, Hiromitsu Kumada<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Toranomon Hospital, Tokyo, Japan

<sup>2</sup>Sapporo-Kosei General Hospital, Sapporo, Japan

<sup>3</sup>Hiroshima University, Hiroshima, Japan

<sup>4</sup>Saitama Medical University, Saitama, Japan

<sup>5</sup>Kansai Rosai Hospital, Amagasaki, Japan

<sup>6</sup>Bristol-Myers KK, Tokyo, Japan

<sup>7</sup>Bristol-Myers Squibb Research & Development, Wallingford, CT, USA

<sup>8</sup>Bristol-Myers Squibb Research & Development, Princeton, NJ, USA

\*Corresponding author e-mail: fumitakas@toranomon.gr.jp

**Background:** Daclatasvir-containing regimens have the potential to address limitations of current regimens combining peginterferon alfa and ribavirin with first-generation protease inhibitors for treatment of chronic HCV genotype 1 infection.

**Methods:** In this randomized, double-blind study, 27 Japanese treatment-naïve patients received once-daily daclatasvir 10 mg or 60 mg or placebo, each combined with peginterferon alfa-2b/ribavirin; 18 prior null ( $n=9$ ) or partial ( $n=9$ ) responders received the same daclatasvir-containing regimens without a placebo arm. Daclatasvir recipients with protocol-defined response (HCV RNA < 15 IU/ml at week 4, undetectable at week 12) were treated for 24 weeks; those without protocol-defined response and placebo recipients continued treatment to week 48.

**Results:** Sustained virological response 24 weeks post-treatment (SVR<sub>24</sub>) was achieved by 66.7%, 90.0% and

62.5% of treatment-naïve patients in the daclatasvir 10 mg, 60 mg and placebo groups, respectively. Prior non-responders had more frequent virological failure; 22.2% and 33.3% of daclatasvir 10 mg and 60 mg recipients, respectively, achieved SVR<sub>24</sub>. Adverse events were similar across groups and were typical of peginterferon alfa-2b/ribavirin. Pyrexia, headache, alopecia, decreased appetite and malaise were the most common adverse events; two daclatasvir recipients discontinued due to adverse events.

**Conclusions:** Daclatasvir 60 mg combined with peginterferon alfa-2b and ribavirin achieved a high rate of SVR<sub>24</sub> in treatment-naïve patients with HCV genotype 1 infection, with tolerability similar to that of peginterferon alfa-2b/ribavirin alone. However, regimens with greater antiviral potency are needed for prior non-responders.

## Introduction

The advent of direct-acting antivirals (DAAs) marks a significant advance in the treatment of chronic HCV infection. Regimens containing the non-structural protein 3 (NS3) protease inhibitors telaprevir and boceprevir, as well as multiple investigational agents, have demonstrated significantly increased rates of sustained virological response (SVR) compared with peginterferon alfa/ribavirin (alfa/RBV) alone [1]. SVR rates of 68–75% have been achieved with alfa/RBV

combined with boceprevir or telaprevir in treatment-naïve patients with HCV genotype 1 infection [2,3], although efficacy is lower in patients who previously failed alfa/RBV therapy [4,5].

Initial experience with regimens containing telaprevir or boceprevir has, however, identified several limiting characteristics that emphasize the need for continued development of alternative DAAs. Telaprevir- and boceprevir-containing regimens have complicated

dosing schedules and are associated with frequent adverse events such as rash and anaemia [2–5]. In addition, telaprevir and boceprevir have frequent drug–drug interactions with other medications, potentially limiting utility for patients with concomitant medical conditions, and their efficacy has been established only in HCV genotype 1 infection [6,7]. Compounds from alternative mechanistic classes offer potential for greater and broader antiviral potency to include HCV genotypes 2, 3 and 4, as well as improved tolerability, more convenient dosing schedules, reduced risk of drug resistance and reduced potential for drug–drug interactions [8]. Agents of new mechanistic classes with non-overlapping resistance profiles allow development of DAA combinations that may be effective for patients resistant to current NS3 protease inhibitors.

Daclatasvir (BMS-790052) is a first-in-class non-structural protein 5A (NS5A) replication complex inhibitor with picomolar potency and activity against HCV genotypes 1 to 6 [9]. Daclatasvir has a human pharmacokinetic profile consistent with once-daily dosing and has shown potent antiviral activity in Phase I clinical studies [10]. Daclatasvir has been well tolerated in combination with alfa/RBV in clinical studies, with an adverse event profile similar to that of alfa/RBV alone [11,12]. In a previous Phase II study in patients with chronic HCV genotype 1 infection, 83% of patients achieved SVR following a 48-week regimen of daclatasvir 60 mg once daily combined with standard peginterferon alfa-2a/RBV (alfa-2a/RBV) [12].

We assessed the efficacy and safety of daclatasvir in combination with peginterferon alfa-2b (alfa-2b; PegIntron) and RBV in Japanese patients with chronic HCV genotype 1 infection, including HCV treatment-naïve patients and patients who previously failed to achieve SVR following alfa/RBV therapy (null and partial responders). The response-guided design assessed whether a shorter 24-week course of therapy was sufficient for daclatasvir recipients who achieve early virological milestones.

## Methods

### Study design

In this five-arm, double-blind, randomized Phase IIa study (ClinicalTrials.gov identifier NCT01016912), enrolled patients were either naïve to treatment with interferons and DAAs active against HCV or had prior non-response to alfa/RBV, defined as failing to achieve a 2 log<sub>10</sub> reduction of HCV RNA at week 12 (null responder) or having never achieved undetectable serum HCV RNA after at least 12 weeks of therapy (partial responder) [13]. Treatment-naïve patients were randomly assigned (1:1:1) to receive once-daily oral daclatasvir 10 or 60 mg or placebo, each in combination

with subcutaneous alfa 60 to 150 µg once weekly and twice-daily oral RBV 600 to 1,000 mg/day. Alfa and RBV doses were determined by body weight in accordance with Japanese label recommendations. Prior non-responders were randomly assigned (1:1) to receive the same daclatasvir-containing regimens but there was no placebo arm for this group because of the known very poor responsiveness of these populations to retreatment with alfa/RBV.

Patients were treated for 24 or 48 weeks. Randomized treatment assignment was double-blind and placebo-controlled for daclatasvir in the first 24 weeks. The study was unblinded at week 24 and conducted subsequently as open label. Patients receiving daclatasvir-containing regimens stopped treatment at week 24 if they achieved a protocol-defined response (PDR), defined as HCV RNA below the assay limit of quantitation (<15 IU/ml) at week 4 and undetectable at week 12; daclatasvir recipients without PDR continued treatment to week 48. All placebo recipients were treated for 48 weeks.

The study protocol and informed consent were approved by an independent ethics committee and institutional review boards at each participating site prior to study initiation. The study was designed and conducted by the sponsor (Bristol-Myers Squibb) in collaboration with the principal investigators, and was conducted in compliance with the Declaration of Helsinki, local regulatory requirements and Good Clinical Practice, as defined by the International Conference on Harmonisation.

### Patients

Patients were enrolled in six academic clinical research centers in Japan between December 2009 and February 2010. Enrolled patients were men and women, aged 20–70 years, with chronic HCV genotype 1 infection and HCV RNA ≥10<sup>5</sup> IU/ml. Women of childbearing potential must have been using effective methods of contraception due to the contraindication of RBV for women who are pregnant or who may become pregnant.

Patients were excluded if they had evidence of liver cirrhosis by laparoscopy, imaging studies or liver biopsy within 24 months prior to screening, history or evidence of hepatocellular carcinoma or other chronic liver disease; coinfection with HBV or HIV; haemoglobinopathies or other diagnoses associated with increased risk of anaemia; or other medical, psychiatric or social reason rendering the individual inappropriate for study participation. Patients were also excluded if they had been exposed to any investigational drug or placebo within 4 weeks prior to dosing, or had any previous exposure to new or investigational HCV therapeutic agents. Exclusionary laboratory parameters included alanine aminotransferase ≥5× upper limit of normal,

total bilirubin  $\geq 2$  mg/dl, international normalized ratio  $\geq 1.7$ , albumin  $\leq 3.5$  g/dl, haemoglobin  $< 12$  g/dl, white blood cell count  $< 4 \times 10^9/l$ , absolute neutrophil count  $< 1.5 \times 10^9/l$ , platelet count  $< 100 \times 10^9/l$  or creatinine clearance  $< 50$  ml/min. Prohibited medications included proton pump inhibitors and moderate or strong inducers or inhibitors of CYP3A4.

#### Safety and efficacy assessments

Assessments that included HCV RNA, physical examination, adverse events, laboratory tests, pregnancy test and concomitant medications, were conducted at screening, study day 1 (baseline), weeks 1, 2, 4, 6, 8 and 12, then every 4 weeks until the end of therapy, and post-treatment weeks 4, 12 and 24. Twelve-lead electrocardiograms were recorded at screening and on-treatment weeks 4, 12, 24 and 48. Serum HCV RNA was determined centrally using the COBAS TaqMan HCV Auto assay (Roche Diagnostics KK, Tokyo, Japan), lower limit of quantitation = 15 IU/ml. HCV genotype was determined at a central laboratory by PCR amplification and sequencing. *IL28B* genotype was determined by PCR amplification and sequencing of the rs12979860 single-nucleotide polymorphism.

#### Efficacy end points

The primary efficacy end point was the proportion of patients with HCV RNA undetectable at weeks 4 and 12 on-treatment (extended rapid virological response [eRVR]). Secondary end points included the proportions of patients with undetectable HCV RNA at week 4 (rapid virological response [RVR]), week 12 (complete early virological response [cEVR]) and post-treatment weeks 12 ( $SVR_{12}$ ) and 24 ( $SVR_{24}$ ).

HCV resistance testing was performed on stored specimens by PCR amplification and population sequencing of the HCV NS5A domain. Resistance testing was performed on all samples at baseline and on samples indicative of virological failure when HCV RNA was  $\geq 1,000$  IU/ml. Virological failure was defined as either  $< 2 \log_{10}$  HCV RNA decrease from baseline at week 12, virological rebound (HCV RNA detectable on treatment after previously undetectable or  $\geq 1 \log_{10}$  increase in HCV RNA from nadir) or detectable HCV RNA at end of therapy or post-treatment in patients with undetectable HCV RNA at end of therapy (relapse).

#### Sample size and statistical analysis

With the target sample size of eight patients per treatment group, a safety event occurring at an incident rate of 19% with 80% probability could be detected. Randomization was conducted by the sponsor at a central randomization centre. Patients were randomly allocated

to treatment groups; investigators received treatment kit assignments by fax from the randomization centre for eligible screened patients. Categorical variables were summarized using counts and percentages; continuous variables were summarized with univariate statistics. CIs were two-sided with an 80% confidence level. CIs for binary end points were exact binomial, whereas the CIs for continuous end points were based on the normal distribution. All statistical analyses were conducted using SAS/STAT Version 8.02 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

## Results

### Patient characteristics and disposition

A total of 51 patients were screened; 6 were excluded due to abnormal thyroid function, history of cholecystectomy, ventricular arrhythmia or white blood cell count  $< 4 \times 10^9/l$  (3 patients), respectively. Twenty-seven treatment-naïve patients and 18 prior non-responders met study criteria and were randomized and treated (Table 1). All patients were Japanese; other than an imbalance in gender distribution and older age in non-responders, baseline characteristics were similar across treatment groups. Although the study permitted any HCV genotype 1 subtype, all enrolled patients had genotype 1b, reflecting the high proportion of this subtype in Japan [14]. The non-responder group included nine null responders and nine partial responders, with similar distributions in the two treatment arms. Prior non-responders were primarily (16/18 patients) *IL28B* genotypes CT or TT as expected for this population; 18 of the 27 treatment-naïve patients were genotype CC, consistent with the overall distribution of *IL28B* genotypes in Japan [15,16]. However, there was an imbalance of *IL28B* genotypes (CC versus CT/TT) among the three treatment-naïve groups, with six, one and two patients with non-CC genotypes in the daclatasvir 10 mg, daclatasvir 60 mg and placebo groups, respectively.

The 24-week double-blind phase was completed by 38 of 45 patients. Two treatment-naïve patients, one each from the daclatasvir 10 mg and 60 mg groups, discontinued due to neutropenia (week 12) and depression (week 20), respectively. Five patients discontinued due to lack of efficacy (viral breakthrough), including one treatment-naïve patient (daclatasvir 10 mg group) and four non-responders (one in the daclatasvir 10 mg group and three in the daclatasvir 60 mg group).

Four patients (three in the daclatasvir 10 mg group and one in the daclatasvir 60 mg group) discontinued open-label treatment between weeks 36 and 45 due to lack of efficacy (viral breakthrough). Eleven patients had reduction of alfa-2b dose, including two, six and three patients in the placebo, daclatasvir 10 mg and daclatasvir 60 mg groups, respectively. Thirty-three patients had RBV dose reductions, including 7, 14



Table 1. Baseline demographic and disease characteristics

Baseline parameter	Treatment-naïve			Non-responders	
	Placebo + alfa-2b/RBV (n=8)	DCV 10 mg + alfa-2b/RBV (n=9)	DCV 60 mg + alfa-2b/RBV (n=10)	DCV 10 mg + alfa-2b/RBV (n=9)	DCV 60 mg + alfa-2b/RBV (n=9)
Median age, years (range)	50 (42–66)	51 (21–68)	55 (36–66)	58 (48–67)	63 (42–70)
Male, n (%)	4 (50)	2 (22)	6 (60)	3 (33)	3 (33)
HCV genotype 1b, n (%)	8 (100)	9 (100)	10 (100)	9 (100)	9 (100)
Mean HCV RNA, log <sub>10</sub> IU/ml (SD)	6.9 (0.54)	6.6 (0.44)	6.5 (0.81)	6.8 (0.54)	6.8 (0.57)
Response to prior alfa/RBV					
Null response, n (%)	N/A	N/A	N/A	4 (44)	5 (56)
Partial response, n (%)	N/A	N/A	N/A	5 (56)	4 (44)
<i>IL28B</i> genotype (rs12979860)					
CC, n	6	3	9	0	1
CT, n	2	6	1	7 <sup>a</sup>	7
TT, n	0	0	0	1	1

<sup>a</sup>*IL28B* genotype not available for one non-responder recipient of daclatasvir (DCV) 10 mg. N/A, not available; alfa-2b/RBV, peginterferon alfa-2b/ribavirin.

and 12 patients in the placebo, daclatasvir 10 mg and daclatasvir 60 mg groups, respectively.

#### Virological response

In treatment-naïve daclatasvir recipients, HCV RNA levels declined rapidly after initiation of therapy, with HCV RNA becoming undetectable by week 4 (RVR) in 77.8% and 80% of patients in the daclatasvir 10 mg and 60 mg groups, respectively, compared with none in the placebo group (Table 2). The primary efficacy end point, eRVR, was achieved by 66.7% and 80.0% of patients in the daclatasvir 10 mg and 60 mg groups, respectively, versus 0% in the placebo group.

PDR was achieved by 7 of 9 (77.8%) and 10 of 10 (100%) treatment-naïve patients in the daclatasvir 10 mg and 60 mg groups, respectively; these patients completed treatment after 24 weeks. HCV RNA was undetectable at the end of therapy (week 24) in 10 of 10 (100%) daclatasvir 60 mg recipients with PDR and in 6 of 7 (85.7%) daclatasvir 10 mg recipients with PDR. SVR<sub>24</sub> was achieved by 6 of 7 (85.7%) daclatasvir 10 mg recipients with PDR and by 9 of 10 (90.0%) daclatasvir 60 mg recipients with PDR. Overall, in the combined group of treatment-naïve patients with PDR (24 weeks of therapy) or without PDR (48 weeks) SVR<sub>24</sub> was achieved by 66.7% and 90.0% of patients receiving daclatasvir 10 mg and 60 mg, respectively, compared with five of eight (62.5%) treatment-naïve placebo recipients after 48 weeks of therapy. Two treatment-naïve daclatasvir 10 mg recipients failed to achieve PDR; neither achieved SVR following 48 weeks of therapy.

Viral suppression was less pronounced in prior non-responders. The primary efficacy end point, eRVR, was achieved by 55.6% and 22.2% of patients in the daclatasvir 10 mg and 60 mg groups, respectively;

SVR<sub>24</sub> was achieved by 22.2% and 33.3% of these patients. PDR was achieved by 55.6% and 33.3% in the daclatasvir 10 mg and 60 mg groups, respectively (Table 2). Although all eight non-responders with PDR had undetectable HCV RNA through the end of therapy (week 24), among these patients only two of five (40.0%) daclatasvir 10 mg recipients and two of three (66.7%) daclatasvir 60 mg recipients achieved SVR<sub>24</sub>, with the remaining patients experiencing post-treatment relapse. PDR was not achieved by four of nine and six of nine non-responder recipients of daclatasvir 10 mg and 60 mg, respectively; at the end of post-treatment follow-up, none of four and one of six of these patients achieved SVR<sub>24</sub>.

In treatment-naïve patients, HCV RNA was undetectable at week 12 (cEVR) and post-treatment week 24 (SVR<sub>24</sub>) in 100% of daclatasvir recipients with *IL28B* genotype CC (rs12979860; three of three and nine of nine daclatasvir 10 mg and 60 mg recipients, respectively). Response rates were lower in patients with *IL28B* genotype CT: SVR<sub>24</sub> was achieved by three of six treatment-naïve patients with genotype CT in the daclatasvir 10 mg group; the single daclatasvir 60 mg recipient who failed to achieve SVR<sub>24</sub> was also genotype CT.

#### Virological failure

Virological failure of all types was less frequent in treatment-naïve patients than in non-responders. Treatment-naïve recipients of daclatasvir 60 mg had the lowest rate of virological failure and no on-treatment viral breakthrough. Breakthrough occurred in one treatment-naïve patient receiving daclatasvir 10 mg and in one placebo recipient, and one daclatasvir 10 mg recipient had detectable HCV RNA at the end of treatment (Table 2). Four treatment-naïve patients

Table 2. Virological outcomes

	Treatment-naïve			Prior non-responders	
	Placebo (n=8)	DCV 10 mg (n=9)	DCV 60 mg (n=10)	DCV 10 mg (n=9)	DCV 60 mg (n=9)
All patients					
HCV RNA undetectable week 4 (RVR)	0/8 (0; 0.0, 25.0)	7/9 (77.8; 51.0, 93.9)	8/10 (80.0; 55.0, 94.5)	5/9 (55.6; 30.1, 79.0)	3/9 (33.3; 12.9, 59.9)
HCV RNA undetectable week 12 (cEVR)	5/8 (62.5; 34.5, 85.3)	7/9 (77.8; 51.0, 93.9)	10/10 (100; 79.4, 100.0)	5/9 (55.6; 30.1, 79.0)	5/9 (55.6; 30.1, 79.0)
HCV RNA undetectable weeks 4 and 12 (eRVR)	0/8 (0; 0.0, 25.0)	6/9 (66.7; 40.1, 87.1)	8/10 (80.0; 55.0, 94.5)	5/9 (55.6; 30.1, 79.0)	2/9 (22.2; 6.1, 49.0)
HCV RNA undetectable, EOT	7/8 (87.5; 59.4, 98.7)	7/9 (77.8; 51.0, 93.9)	10/10 (100; 79.4, 100.0)	5/9 (55.6; 30.1, 79.0)	5/9 (55.6; 30.1, 79.0)
SVR <sub>24</sub>	5/8 (62.5; 34.5, 85.3)	6/9 (66.7; 40.1, 87.1)	9/10 (90.0; 66.3, 99.0)	2/9 (22.2; 6.1, 49.0)	3/9 (33.3; 12.9, 59.9)
Viral breakthrough <sup>a</sup>	1/8 (12.5)	1/9 (11.1)	0/10 (0)	4/9 (44.4)	4/9 (44.4)
Post-treatment relapse <sup>a</sup>	2/8 (25.0)	1/9 (11.1)	1/10 (10.0)	3/9 (33.3)	2/9 (22.2)
Patients with PDR					
HCV RNA <15 IU/ml at week 4, undetectable at week 12 (PDR)	0/8 (0; 0.0, 25.0)	7/9 (77.8; 51.0, 93.9)	10/10 (100; 79.4, 100.0)	5/9 (55.6; 30.1, 79.0)	3/9 (33.3; 12.9, 59.9)
HCV RNA undetectable, EOT <sup>a</sup>	-	6/7 (85.7)	10/10 (100)	5/5 (100)	3/3 (100)
SVR <sub>24</sub> <sup>a</sup>	-	6/7 (85.7)	9/10 (90.0)	2/5 (40.0)	2/3 (66.7)
Post-treatment relapse <sup>a</sup>	-	1/7 (14.3)	1/10 (10.0)	3/5 (60.0)	1/3 (33.3)

Data are end point (n/total n [%; 80% CI]) unless otherwise indicated. <sup>a</sup>Data are end point (n/total n [%]). cEVR, complete early virological response; DCV, daclatasvir; EOT, end of treatment; eRVR, extended rapid virological response; PDR, protocol-defined response; RVR, rapid virological response; SVR<sub>24</sub>, sustained virological response 24 weeks post-treatment.

relapsed post-treatment, including two placebo recipients and one in each daclatasvir group. In non-responders, four patients in each treatment group experienced viral breakthrough and five relapsed post-treatment (three receiving daclatasvir 10 mg, two receiving daclatasvir 60 mg; Table 2).

NS5A-L31M/V and/or NS5A-Y93H, which are the predominant genotype 1b NS5A polymorphisms associated with daclatasvir resistance, were detected at baseline in three of the seven daclatasvir recipients with virological failure [17]. NS5A-L31M/V-Y93H variants were detected post-failure in the four treatment-naïve daclatasvir recipients with virological failure. Emerging NS5A variants were more variable in the 13 prior non-responders who failed treatment, and included L31V/M/V-Y93H, R30Q/A92K, ΔP32 and L31F-ΔP32. Most patients with virological failure had non-CC *IL28B* genotypes, including all 4 treatment-naïve daclatasvir recipients, 1 of 3 treatment-naïve placebo recipients and 11 of 13 non-responders (data missing for 1 patient).

### Safety

The most frequent adverse events were pyrexia, headache, alopecia, decreased appetite and malaise (Table 3). There were no consistent differences in adverse events between groups receiving placebo or either dose of daclatasvir. Frequencies of grade 3 or 4 adverse events were comparable across treatment

groups; the majority of events were cytopenias. There was one serious adverse event (gastroenteritis of moderate intensity) in a non-responder treated with daclatasvir 10 mg combined with alfa-2b/RBV; the event occurred during treatment week 24 and resolved within 8 days without treatment, coincident with the end of study therapy. There were no deaths.

Two adverse events led to discontinuation of study treatment in naïve patients: neutropenia (daclatasvir 10 mg + alfa-2b/RBV) and depression (daclatasvir 60 mg + alfa-2b/RBV group); both events resolved post-treatment without intervention. There were no consistent differences in haematological or laboratory abnormalities between groups receiving placebo or daclatasvir (Table 4); most abnormalities were mild or moderate in intensity (grade 1 or 2).

### Discussion

Clinical outcomes with current telaprevir- and boceprevir-containing regimens can be limited by frequent virological failure, poor tolerability, complicated dosing schedules and drug-drug interactions with other medications [2-5]. Our results and other clinical findings suggest that daclatasvir, in combination with alfa/RBV and/or other DAAs, may offer a viable alternative to regimens containing first-generation NS3 protease inhibitors [12,18,19].

Table 3. Adverse events occurring in &gt;25% of patients in any treatment group

Grade 1-4 adverse event	Treatment-naïve			Non-responders	
	Placebo (n=8)	DCV 10 mg (n=9)	DCV 60 mg (n=10)	DCV 10 mg (n=9)	DCV 60 mg (n=9)
Pyrexia	5	8	9	6	8
Headache	5	6	4	5	3
Alopecia	2	3	7	2	3
Decreased appetite	1	3	3	5	2
Malaise	2	7	2	2	1
Pruritus	3	3	2	1	5
Anaemia	5	2	2	4	0
Nasopharyngitis	2	5	3	0	2
Lymphopenia	1	2	3	3	2
Rash	3	2	5	0	1
Diarrhoea	0	3	4	3	1
Injection site pruritus	2	3	3	2	1
Fatigue	3	0	3	3	1
Neutropenia	1	4	2	2	0
Back pain	1	0	3	5	0
Stomatitis	1	3	3	1	1
Abdominal discomfort	1	2	3	1	1
Constipation	3	1	1	1	2
Nausea	3	1	1	2	0
Dysgeusia	0	0	3	3	0
Insomnia	1	2	3	0	0
Cheilitis	0	2	3	0	0
Arthralgia	3	2	0	0	0

Data are n. DCV, daclatasvir.

Table 4. On-treatment haematological and laboratory abnormalities

Event	Treatment-naïve, placebo (n=8)		Treatment-naïve, DCV 10 mg (n=9)		Treatment-naïve, DCV 60 mg (n=10)		Non-responders, DCV 10 mg (n=9)		Non-responders, DCV 60 mg (n=9)	
	Any grade	Grade 3/4	Any grade	Grade 3/4	Any grade	Grade 3/4	Any grade	Grade 3/4	Any grade	Grade 3/4
Anaemia	5	1	5	0	6	1	6	3	3	0
Neutropenia	5	1	7	4	8	2	7	2	5	0
Leukopenia	5	0	7	1	5	0	5	2	4	0
Thrombocytopenia	3	0	4	0	5	0	1	0	5	0
Lymphopenia	2	1	3	2	4	3	3	3	4	2
Low albumin	2	0	3	0	3	0	5	0	3	0
Elevated ALT	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0
Elevated AST	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0
Elevated bilirubin	3	0	5	1	5	0	5	0	1	0
Elevated lipase	1	0	2	0	2	0	0	0	2	0

Data are n. ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; DCV, daclatasvir.

This study demonstrates that the combination of daclatasvir and alfa-2b/RBV provides more rapid virological response than alfa-2b/RBV alone. A high proportion of treatment-naïve patients receiving daclatasvir and alfa-2b/RBV achieved PDR and qualified for 24 weeks of therapy, including all 10 patients receiving daclatasvir 60 mg. PDR was generally predictive of SVR<sub>24</sub>: 15 of 17 treatment-naïve daclatasvir recipients with PDR subsequently achieved SVR<sub>24</sub>. In

the control arm, 62.5% of patients achieved SVR<sub>24</sub> following 48 weeks of therapy with alfa-2b/RBV. Rates of SVR<sub>4</sub>, SVR<sub>12</sub> and SVR<sub>24</sub> correlated well at the 60 mg dose of daclatasvir in both treatment-naïve patients and non-responders, suggesting that late relapses are infrequent with this regimen.

The overall SVR<sub>24</sub> rate of 90% in treatment-naïve patients receiving the daclatasvir 60 mg regimen compares favourably with SVR rates reported for telaprevir

and boceprevir in global registration studies, and was achieved with a shorter six-month therapeutic regimen [2,3]. This 90% response rate is similar to the 83% and 90% SVR<sub>24</sub> rates achieved with regimens combining telaprevir with alfa-2b/RBV in generally similar Japanese populations of patients with HCV genotype 1b infection and *IL28B* genotype TT (rs8099917) or CC (rs12979860) [20,21]. Outcomes in treatment-naïve patients in the present study are comparable to the 100% SVR<sub>24</sub> rate (8/8 patients) achieved in a parallel study where a similar patient population received daclatasvir 60 mg combined with alfa-2a/RBV [18]. However, cross-study comparisons and small patient numbers do not support definitive conclusions concerning outcomes with alfa-2a versus alfa-2b. The 90% SVR<sub>24</sub> rate achieved with the daclatasvir 60 mg regimen in treatment-naïve patients is comparable to the 83% SVR<sub>24</sub> rate achieved with 48 weeks of treatment with daclatasvir 10 or 60 mg + alfa-2a/RBV in US/European patients with predominantly HCV genotype 1a infection [12]. In a recent Phase IIb study with a response-guided design similar to that applied in this study, 87% of patients with genotype 1b infection achieved SVR<sub>12</sub> after 24 or 48 weeks of therapy with daclatasvir 60 mg in combination with alfa-2a/RBV; however, SVR<sub>12</sub> was achieved by a lower percentage of patients (58%) with genotype 1a [19]. For daclatasvir 10 mg recipients in the present study, the overall SVR<sub>24</sub> rate was 66.7%. This lower rate, compared with results achieved with daclatasvir 60 mg, was attributable to a reduced early virological response and a higher rate of virological failure, and provides additional support for selection of the 60 mg dose of daclatasvir for further evaluation in Phase III studies.

Results suggest that *IL28B* genotype may influence outcomes with this regimen, although data are limited. All 12 treatment-naïve daclatasvir recipients with CC genotype achieved SVR<sub>24</sub>, compared with 3 of 7 (43%) patients with non-CC genotype. However, three of the four treatment-naïve patients with non-CC genotypes who failed to achieve SVR received the lower 10 mg dose of daclatasvir, which may have been a factor in non-response. Further study is needed to determine the possible influence of *IL28B* genotype on outcomes with this regimen. Data from other studies in which DAAs were combined with alfa/RBV suggest that the magnitude of *IL28B* effect is generally reduced with more potent regimens [22]. Only one patient in the non-responder cohort had CC genotype, precluding assessment of *IL28B* effects in this population.

Because of higher rates of on-treatment and post-treatment virological failure, a lower proportion of patients with prior non-response to alfa/RBV achieved PDR and SVR<sub>24</sub> compared with treatment-naïve patients. SVR<sub>24</sub> was achieved by 33.3% of prior

non-responders receiving daclatasvir 60 mg, comparable to results achieved with telaprevir- or boceprevir-containing regimens after 48 weeks of therapy [4,5]. Results suggest that virological failure in this study was predicted primarily by host alfa/RBV responsiveness. The non-responder population in this study had previously shown poor response to alfa/RBV; 50% were prior null responders. All but one prior non-responder had *IL28B* non-CC genotypes, which may have contributed to their initial failure with alfa/RBV as well as to the high virological failure rate in the present study. Together, these results suggest that alternative regimens are needed for non-responders to address their interferon non-responsiveness. In this regard, two studies in prior null responders have evaluated regimens containing two DAAs with or without alfa/RBV. SVR rates exceeding 90% were achieved in genotype-1b-infected patients with a regimen combining daclatasvir with the NS3 protease inhibitor asunaprevir [23,24], and in genotype-1a-infected patients using a quadruple regimen of daclatasvir, asunaprevir and alfa/RBV [24].

Virological failure was infrequent in treatment-naïve patients and occurred primarily in patients receiving daclatasvir 10 mg. The single failure in treatment-naïve patients receiving daclatasvir 60 mg was post-treatment relapse in the only patient from this group with non-CC *IL28B* genotype. As expected, virological failure was more frequent in non-responders; failure was experienced by similar proportions of patients receiving the 10 mg and 60 mg doses of daclatasvir. Daclatasvir-resistant HCV variants were detected in all patients with virological failure, most frequently the combination of NS5A-L31V-Y93H which confers high-level daclatasvir resistance *in vitro* [17]. This resistance pattern is consistent with that observed in other clinical studies of daclatasvir [12,24].

Safety profiles of the study regimens were generally similar and comparable to that typically seen with alfa/RBV [25]. There was no marked difference in the patterns of adverse events or laboratory abnormalities between treatment groups, with no evidence suggesting that daclatasvir at either dose contributed significantly to overall regimen tolerability or safety. The observed safety profile of daclatasvir is consistent with results of previous studies of daclatasvir monotherapy [10], daclatasvir combined with alfa/RBV [11,12,19] and daclatasvir combined with other DAAs [23,24,26]. The single serious adverse event (gastroenteritis) was considered treatment-related by the investigator, but the relative contributions of daclatasvir and alfa-2b/RBV to the event cannot be assessed.

Limitations of this study include the relatively small sample size, which precludes quantitative comparisons of efficacy outcomes and definitive conclusions