

厚生科学研究委託費（肝炎等克服緊急対策研究事業） 分担研究報告書

研究テーマ名 DCV/ASV 療法の薬剤耐性からみた HCV dynamics

研究分担者 狩野吉康 札幌厚生病院 肝臓内科 副院長

研究要旨：Daclatasvir/Asunaprevir 併用療法時の抗ウイルス効果を Direct sequence (DS) 法 PCR-Invader (PI) 法 (BML) の二法で比較した。DAA 未治療の 49 例 (DSV/ASV 治験参加例) と 194 例 (非治験例) では PI 法で薬剤耐性変異を測定、治験例のうちの 35 例では DS 法で薬剤耐性変異を測定した。DS 法での薬剤耐性は D168 1 例 (3.0%)、L31 0 例 (0%)、Y93 6 例 (18.2%)、PI 法では D168 陽性 9 例 (4.6%)、弱陽性 94 例 (48.5%)、L31 陽性 6 例 (3.1%)、弱陽性 8 例 (4.1%)、Y93 陽性 44 例 (22.7%)、弱陽性 65 例 (33.5%) であった。DCV/ASV 治療例の薬剤耐性の有無別の SVR 達成率は DS 法では D168 耐性変異 有：100% (N=1)、無：91.2% (N=34)、Y93 耐性変異 有：71.4% (N=7)、無：95.6% (N=23)、PI 法では D168 耐性変異 弱陽性：88.9% (N=9)、無：95.8% (N=24)、Y93 耐性変異 陽性：66.7% (N=6)、弱陽性：100% (N=7)、無 95.2% (N=21) であり、いずれの測定法でも薬剤耐性変異の無い症例では高率に SVR が得られていた。PI 法での弱陽性の治療効果に対する関与は少ないものと思われた。実臨床例で D168, L31, Y93 の弱陽性有無別の HCV dynamics 検討を行ったが、弱陽性の有無、弱陽性の数とともに dynamics に対する影響を認めなかった。以上より弱陽性と判定される薬剤耐性の DCV/ASV 治療効果に対する影響は軽微と考えられた。

A. 研究目的

今後の C 型肝炎治療は DAA 併用療法が主役になって行くと思われるが、DAA による治療の最も大きな障害は薬剤耐性ウイルスの存在である。すなわち治療に用いる DAA に対する耐性 HCV が存在すると治療効果が減弱することになる。現状では薬剤耐性 HCV に対する検査系の評価は定まっておらず、また検査の結果がどの程度治療効果を左右するのかも明らかになっていない。そのため、二つの検査系、Direct sequence (DI) 法、PCR-Invader (PI) 法を用いて Daclatasvir/Asunaprevir 併用療法の効果とベースラインの耐性ウイルスの関連を検討した。

B. 研究方法

DAA 未治療の 49 例 (DSV/ASV 治験参加例) と 194 例 (非治験例) を対象とした。治験例は DCV/ASV の第 2 相および第 3 相試験参加者で、すでに最終的な治療効果 (SVR/非 SVR) が確定している症例である。非治験例は、DCV/ASV 治療導入を念頭に HCV 薬剤耐性変異を測定した症例である。治験参加例においては、二つの測定法別に薬剤耐性の有無別に治療効果との関連を検討した。検討した耐性部位は NS3 領域の D168、NS5A 領域の L31 と Y93 である。

PI 法では変異ウイルスのみ、或いは変異ウイルスと野生型ウイルスが混在して検出された症例を薬剤耐性有り、野生型ウイルスのみの症例を薬剤耐性無しと判定した。PI 法では NS3、NS5A 領域のアミノ酸変異を定性的に解析し、変異型の存在比率から 20%以上を陽性、20%未満を弱陽性と陰性に判定した。

治験症例では D168, L31, Y93 の耐性変異の存在

と DCV/ASV 併用療法の効果の関連を二つの測定法で検討した。非治験例では二つの測定法での各々部位の耐性変異の頻度を検討した。また DSV/ASV 併用療法導入例を対象として、PI 法にて弱陽性と判定された症例での HCV dynamics を検討した。

(倫理面への配慮)

治験参加例においては、治験参加の同意を得ている。また全ての症例において画像診断を含む検査データのデータベースへの登録、血清の保存、およびそれらのデータの医学研究への使用の同意を得ている。

個人情報の管理に当たっては使用する PC、データベースにパスワードを設定し、情報の流失をブロックしている。

C. 研究結果

研究成果は、薬剤耐性ウイルスの測定が可能になった今年度の成果である。

DS 法および PI 法による DAA 未使用例の NS3、NS5A 薬剤耐性変異の存在比率

DS 法での薬剤耐性は D168 1 例 (3.0%)、L31 0 例 (0%)、Y93 6 例 (18.2%)、PI 法では D168 陽性 9 例 (4.6%)、弱陽性 94 例 (48.5%)、L31 陽性 6 例 (3.1%)、弱陽性 8 例 (4.1%)、Y93 陽性 44 例 (22.7%)、弱陽性 65 例 (33.5%) であった。PI 法の陽性例で薬剤耐性のみで比較しても PI 法で耐性ウイルスの存在が高率であった。(図 1)

薬剤耐性の有無と治療効果 (SVR/非 SVR)

1) DS 法による薬剤耐性変異と治療効果

DS 法では L31 の耐性変異例は認めなかった。耐性変異の有無別の SVR 率は D168 変異有り

100%(N=1)、無し 91.2%(N=34)であった。Y93H 変異有り 71.4%(N=7)、無し 95.6%(N=23)であった。D168 耐性変異なしで非 SVR となった 2 例はいずれも Y93H を有していた。(図 2)

PI 法では SVR 率は D168 耐性変異 弱陽性：88.9%(N=9)、無：95.8%(N=24)、Y93 耐性変異 陽性：66.7%(N=6)、弱陽性：100%(N=7)、無 95.2%(N=21)であった。(図 3)いずれの測定法においても薬剤耐性変異の無い症例では高率に SVR が得られていた。PI 法での弱陽性例においても高率に SVR が得られており、今回の治験全体の SVR 率を上回っていた。

PI 法弱陽性例の HCV dynamics

PI 法弱陽性の臨床的意義を検討する目的で当院の治験参加例を対象に、D168, L31, Y93 の弱陽性数(0, 1, 2, 3)と Y93H 耐性変異陽性に分け、HCV dynamics、HCV RNA 陰性化時期への影響を検討した。治験では治療開始 2 週目までに HCV RNA の陰性化した症例では、全例が SVR となったため治療 2 週間目の陰性化率で比較を行った。図 4 に弱陽性数別の HCV RNA の減衰(平均値)と陰性化率を示す。HCV RNA の減衰に差を認めず、治療 2 週間目の HCV RNA の陰性化率にも弱陽性の有無、さらに弱陽性数にも一定の傾向を認めなかった。

D. 考察

2 種類の薬剤耐性変異測定系を比較検討したが、PI 法でやや薬剤耐性が高率に検出された。薬剤耐性変異と DCV/ASV 療法の SVR 率の検討では D168, L31 耐性例は少数であり検討が出来なかったが、Y93 変異の検討では DS 法、PI 法共に同様の傾向を示した。PI 法では弱陽性と判定されるグレーゾーンの症例が存在するが、これらの症例の SVR 率は治験全体の SVR 率と差が無く、HCV dynamics で見ても薬剤耐性ウイルスを持たない症例と差が無く、PI 法での弱陽性の臨床的な意義はごく軽微と考えられた。

E. 結論

DS 法、PI 法ともに Y93H の耐性変異検出例では DCV/ASV 併用療法の治療効果は大きく減弱し、これらの方法による耐性変異の検出は、DCV/ASV 併用療法の導入の可否の決定に有用である。PI 法で検出される弱陽性の臨床的な意義は少ないと思われる。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 狩野吉康、豊田成司. 抗ウイルス療法の副作用と対策 .C 型肝炎治療-DAA s で広がる治療対象 - 医療ジャーナル社 2014 年 133-147

2) 狩野吉康 . Daclatasvir(NS5A) +

Asunaprevir(PI)併用療法時の薬剤耐性変異の影響と対策 . 肝胆膵 2013 年 67 巻 935-942

3) Karino Y, Toyota J, Ikeda K, Suzuki F, Chayama K, Kawakami Y, Ishikawa H, Watanabe H, Hernandez D, Yu F, McPhee F, Kumada H. Characterization of virologic escape in hepatitis C virus genotype 1b patients treated with the direct-acting antivirals daclatasvir and asunaprevir. J Hepatol. 2013 Apr;58(4):646-54.

2. 学会発表

1) 山口将功, 小関至, 豊川揚也, 木村睦海, 荒川智宏, 中島知明, 桑田靖昭, 佐藤隆啓, 大村卓味, 髭修平, 狩野吉康, 豊田成司. daclatasvir/asunaprevir 併用療法非著効例に対して simeprevir を用いた 3 剤併用療法を行った 2 例の検討 . 日本肝臓学会東部会. 2014 年東京

2) Yoshiyasu Karino, Shuhei Hige, Tomoaki Nakajima, Mutsumi Kimura, Tomohiro Arakawa, Yasuaki Kuwata, Takahiro Sato, Takumi Ohmura, Joji Toyota . Analysis of the liver function and hepatic reserve improvement effect, and liver carcinogenesis suppressant effect of the Daclatasvir/Asunaprevir combination therapy . 2014 AASLD, Boston

3) Yoshiyasu Karino, Itaru Ozeki, Shuhei Hige . Analysis of the liver function and hepatic reserve improvement effect, and liver carcinogenesis restraint effect of the Daclatasvir Plus Asunaprevir combination therapy. 2014 年日本肝臓学会大会 . 神戸

4) Karino Y, Chayama K, Suzuki Y, Ikeda K, Toyota J, Kawakami Y, Ido A, Yamamoto K, Takaguchi K, Miyagoshi H, Eley T, McPhee F, Hu W, Ishikawa H, Hughes EA, Kumada H. On Treatment Predictors of Response to Daclatasvir (DCV) in Combination With Asunaprevir (ASV) in Japanese Patients With Genotype 1b Infection. 2014 APASL, Brisbane

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得：無し

2. 実用新案登録：無し

3. その他：無し

