

# Efficient Suppression of Hepatitis C Virus Replication by Combination Treatment with miR-122 Antagonism and Direct-acting Antivirals in Cell Culture Systems

著者	劉 范偉
著者別表示	Liu Fanwei
journal or publication title	博士論文要旨Abstract
学位授与番号	13301甲第4494号
学位名	博士（医学）
学位授与年月日	2016-12-31
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/47007">http://hdl.handle.net/2297/47007</a>

doi: <https://doi.org/10.1038/srep30939>



## 論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号 医薬保博甲第73号 氏名 Liu Fanwei

論文審査担当者 主査 浮田 博一

副査 市村 宏

科 板 正道

学位請求論文

題 名 Efficient Suppression of Hepatitis C Virus Replication by Combination Treatment with miR-122 Antagonism and Direct-acting Antivirals in Cell Culture Systems

掲載雑誌名 SCIENTIFIC REPORTS 雑誌 第6巻第30939号 1頁~11頁

平成28年8月掲載

【背景】C型肝炎ウイルス（以下HCV）の感染により、正常肝は慢性肝炎から肝硬変へと変化し、肝硬変からは高率に肝癌が発症する。そのためHCVを感染肝から排除することは、肝疾患関連死を抑制する点で重要である。近年、HCV複製を直接阻害する直接作用型抗ウイルス薬（Direct-acting Antivirals:以下DAA）により、95%以上と極めて高率にウイルス排除が可能となった。しかし、治療前からDAA耐性ウイルスが存在する場合には治療効果が低下することや、治療不成功によりDAA耐性ウイルスが残存し、その後の治療が困難となることが報告されている。そのため、DAA耐性ウイルスに対しても有効な新規治療法の開発が急務である。肝特異的マイクロRNAであるマイクロRNA122（以下miR-122）は、HCV RNAとの相互作用によりHCV複製を増強する。そのためmiR-122に対するアンチセンス鎖の投与である抗miR-122療法は、HCV複製を抑制する。実際抗miR-122療法の抗ウイルス効果は、培養細胞、チンパンジー、ヒトでも証明されている。miR-122と結合能を有しないHCVは複製能が低下するため、抗miR-122療法は、耐性ウイルスが非常に出現にくい。今回抗miR-122療法とDAA併用療法による抗ウイルス効果に関してHCV培養細胞系を用いて解析を行った。【方法】DAAとして、NS3阻害剤シメプレビル、NS5A阻害剤ダクラタスビル、NS5B阻害剤ソフォスブビルを用いた。抗miR-122療法として、Locked Nucleic Acid修飾したアンチセンス鎖（以下LNA-anti-miR-122）を用いた。またHCVは遺伝子型1a H77S.3株、培養細胞はヒト肝癌細胞株Huh-7細胞を用いた。【結果】野生型HCVをいずれかのDAAとLNA-miR-122を投与したところ、相加・相乗的な抗ウイルス効果を認めた。さらに、シメプレビル、ダクラタスビルに対して耐性を示すことが報告されているDAA耐性ウイルスを作成し、DAAとLNA-anti-miR-122を併用投与したところ、DAAに対する薬剤耐性の改善を認めた。これらの結果は、DAAにLNA-anti-miR-122を併用することで、抗ウイルス効果が増強し、DAA耐性ウイルスの出現を予防しうることを強く示唆していた。この仮説を検証するため、HCV持続感染細胞を、1)LNA-antimiR-122、2)DAA、3)DAA+LNA-anti-miR-122で処理し、その抗ウイルス効果を検証した。LNA-anti-miR-122投与では、HCV RNAは持続的に低下した。DAA投与では、初期にはHCV RNA量は低下したが、その後リバウンドし増加した。DAAとanti-miR-122併用では、HCV RNAは強力かつ持続的に低下した。この結果は、DAAの投与よりDAA耐性ウイルスが出現したが、DAAとLNA-anti-miR-122の併用ではDAA耐性ウイルスの出現が抑制された可能性を示唆していた。次に、上記のHCV RNAに関して塩基配列解析を行い、DAA耐性変異の出現様式を検討した。DAAのみ投与されたHCV RNAでは、既知のDAA耐性変異が高頻度出現した。しかし、DAAとanti-miR-122の投与では、DAA耐性変異の出現は極めて低頻度であった。【結論】DAAとLNA-anti-miR-122療法は、相加相乗的な抗ウイルス効果を示し、DAA耐性ウイルスの出現を抑制した。この結果は、DAAと抗miR-122併用療法は今後問題となりえるDAA耐性ウイルスに対する極めて有効な治療法であることを示唆している。

審査結果：本研究はDAA耐性ウイルスに対する新規治療法への開発が期待され、医学博士の学位授与に相当する秀作と高く評価した