

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

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/47007

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



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 序川一

副査 市村宏

科松正道

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 雜誌 第 6 卷第 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 阻害剤ダクラタスピル、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、ダクラタスピ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-anti-miR-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 耐性変異が高頻度に出現した。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