

京都大学	博士（医学）	氏 名	那須 章洋
論文題目	Genetic Heterogeneity of Hepatitis C Virus in Association with Antiviral Therapy Determined by Ultra-deep Sequencing (抗ウイルス療法に伴ったC型肝炎ウイルスの多様性変化の大規模遺伝子解析)		
(論文内容の要旨)			
C型肝炎ウイルス（HCV）は感染患者の中で遺伝子的に均一な同一クローンの集合体として存在するのではなく、様々な変異を有した異なるクローンの集合体(quasispecies)として存在する。しかしながら、従来の遺伝子解析法では感染ウイルス中の代表数クローンの評価しかできず、quasispecies を形成する HCV 感染の全体像を把握することは困難であった。 本研究では、新しく開発された ultra deep sequencing の技術を用い、ペグインターフェロン＋リバビリン併用療法を受けた 27 名の C 型慢性肝炎患者における感染クローンの全塩基配列の同定・解析を行い、HCV ゲノムの多様性について検討した。 Ultra deep sequencing 解析を用いることにより各検体において平均 1,705 クローン、平均 14,875,801 塩基の配列が決定され、C 型慢性肝炎患者では極めて多彩な遺伝子変異を持つクローンが多数共存することが明らかとなった。また、遺伝子領域別では E2 領域が最も多様性に富んでいた。インターフェロン＋リバビリン治療への反応例（8 例）と不応例（8 例）におけるウイルスの多様性の比較では両群で治療前の多様性に有意差を認めなかった（p=0.39）。しかしながら、インターフェロン＋リバビリン治療反応例では治療開始後早期に HCV のすべての遺伝子領域において遺伝子の多様性が減少した（p=0.037）。一方、治療不応例では治療による遺伝子の多様性に変化を認めなかった（p=0.12）。次に新しい抗ウイルス薬である NS3/4A プロテアーゼ阻害剤や NS5B RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ阻害剤に対する耐性ウイルスの存在についての検討を行った。これらの薬剤に対するウイルス側の耐性変異としてこれまで同定されている計 14 ヲ所の変異について検討を行ったところ、過去にこれらの薬剤投与歴のない 27 症例すべてにおいて治療前に既にこれらの薬剤に対する耐性変異を有するクローンが様々な割合で存在することが明らかとなった。以上より薬剤耐性変異を有するウイルスが薬剤投与前から既にほぼすべての C 型肝炎症例に潜在していることが明らかとなった。 Ultra deep sequencing を用いた HCV ゲノム解析により HCV ゲノムの極めて高度な多様性が明らかとなった。またこれらの多様なクローンの存在が抗ウイルス治療に対する反応性や転帰に関与することが示唆され、抗ウイルス治療効果予測への臨床応用が期待された。			

（論文審査の結果の要旨） C型肝炎ウイルス（HCV）は感染患者の中で様々な変異を有した異なるクローンの集合体(quasispecies)として存在するが、従来の解析法では quasispecies を形成する HCV 感染の全体像を把握することは困難であった。申請者は新しく開発された ultra deep sequencing の技術を用い、C 型慢性肝炎患者における感染クローンの全塩基配列の同定・解析を行い、HCV ゲノムの多様性についての検討を行った。 Ultra deep sequencing 解析により C 型慢性肝炎患者では極めて多彩な遺伝子変異を持つクローンが多数共存することが明らかとなった。インターフェロン＋リバビリン治療への反応例と不応例におけるウイルスの多様性の比較では両群で治療前の多様性に有意差はなかったが、治療反応例では治療開始後早期にすべての遺伝子領域において多様性が減少した。一方、治療不応例では治療による多様性に変化を認めなかった。 新規抗ウイルス薬である NS3/4A プロテアーゼ阻害剤や NS5B ポリメラーゼ阻害剤に対する耐性ウイルスの検討では、過去にこれらの薬剤投与歴のない 27 症例すべてにおいて治療前に既にこれらの薬剤に対する耐性変異を有するクローンは様々な割合で存在することが明らかとなった。 以上の研究はC型肝炎ウイルス感染症における感染クローンの解明に貢献し、今後の抗ウイルス治療を含むC型肝炎診療に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成23年12月5日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			