

200704007A

厚生労働科学研究費補助金

社会保障国際協力推進研究事業

主にアジアに蔓延するウイルス性肝疾患の制御に資する為の  
日米合作的肝炎ウイルス基礎研究

平成 19 年度 総括研究報告書

主任研究者 三代 俊治

平成 20 年(2008)4 月

## 目次

---

I. 総括研究報告		頁
1. 班長報告:主にアジアに蔓延するウイルス性肝疾患の制御に資する為の日米合作的肝炎ウイルス基礎研究	(三代俊治)	3
2. 付録:Third Hepatic Inflammation and Immunity. January 25-27, 2008, Galveston, Texas 参戦記	(考藤達哉)	6
II. 分担研究報告		
1. C型肝炎ウイルス培養細胞を用いた研究	(脇田隆宇)	13
2. C型肝炎ウイルス組換え遺伝子型の意義	(溝上雅史)	16
3. C型肝炎における肝脂肪化と酸化ストレス・肝発癌	(小池和彦)	25
4. C型肝炎ウイルスと樹状細胞	(考藤達哉)	31
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	.....	35
IV. 研究成果の刊行物・別刷	.....	39

---

## I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金(社会保障国際協力推進研究事業)

平成 19 年度

総括研究報告書

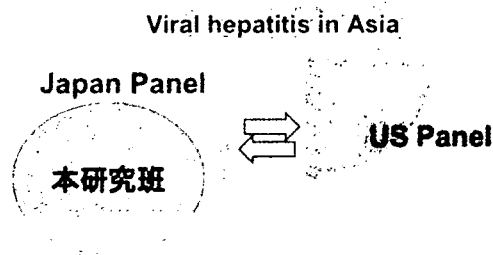
## 主にアジアに蔓延するウイルス性肝疾患の制御に資する為の 日米合作的肝炎ウイルス基礎研究(H19-国医-指定-007)

主任研究者 三代 俊治 東芝病院研究部長

要旨：本研究は、日米醫學協力研究会(USJCMSP、以下『日米醫學』と略す)の肝炎専門部会の活動の一環として実施された。日米醫學の肝炎部会が、亜細亜に特に蔓延する肝炎ウイルスとして B 型と E 型(HBV, HEV)を、将来の感染拡大が懸念される肝炎ウイルスとしては C 型(HCV)を主要研究標的として定めたことに呼應し、本研究班の今年度の研究活動も主に此の三種に関するものであった。また、日米醫學に属する諸部会間の學際的連携を強化する為に、肝炎部会と免疫部会は、2008年1月25-27日に米国テキサス州ガルベストンで開催された Third Hepatic Inflammation and Immunity 會議に同期させる形で、日米間協議を両部会合同で実施した。

### A. 人的構成

日米醫學肝炎部会と表裏一体であるという本研究班の性格からして、本来ならば、同部会の部会員と本研究班の班員が一対一對應して然るべきであるが、病院長という激職に就いた林紀夫部会員の米国派遣が困難であると豫想された故、同部会員の部下であり且つ免疫に造詣の深い考藤達哉准教授を林部会員の代理で分担研究者として組み入れた(下圖参照)。



その他の人員に関しては、本班の構成は日米醫學肝炎部会のそれと完全に一致する。

#### <主任研究者>

三代俊治 東芝病院研究部部長 (USJCMSP『部会長』)

#### <分担研究者>

溝上雅史 名古屋市立大学大学院医学研究科臨床分子情報医学分野教授 (USJCMSP『部会員』)

小池和彦 東京大学大学院医学系研究科生体防御感染症学教授 (USJCMSP『部会員』)

脇田隆宇 国立感染症研究所ウイルス第二部部長 (USJCMSP『部会員』)

考藤達哉 大阪大学大学院医学系研究科樹状細胞制御治療学准教授

#### <研究協力者(USJCMSP『部会員』)>

林 紀夫 大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学教授

#### <研究協力者(同上『研究員』)> abc 順

茶山一彰 広島大学大学院医歯薬学総合研究科分子病態制御内科学教授

榎本信幸 山梨大学医学部第一内科学教室教授

樋野興夫 順天堂大学医学部病理学教授

飯野四郎 静山会清川病院病院長

井廻道夫 昭和大学医学部第二内科学教室教授

金子周一	金沢大学大学院医学系研究科がん遺伝子治療学教授
小原道法	東京都臨床医学総合研究所感染生体防御研究部門室長
工藤正俊	近畿大学医学部消化器内科学教室教授
熊田博光	虎の門病院副院長
松浦善治	大阪大学微生物病研究所エマージング感染症研究センター教授
宮村達男	国立感染症研究所所長
岡本宏明	自治医科大学感染免疫学講座ウイルス学部門教授
岡上 武	京都府立医科大学大学院医学研究科消化器病態制御学教授
小俣政男	東京大学大学院医学系研究科消化器内科学教室教授
恩地森一	愛媛大学医学部第三内科学教室教授
佐田通夫	久留米大学医学部第二内科学教室教授
田中榮司	信州大学医学部第二内科学教室助教授
吉澤浩司	広島大学大学院医歯薬学総合研究科疫学・疾病制御学教室教授

<研究協力者(同上『米國部會員』)> .abc 順

Adrian Di Bisceglie	Saint Louis University School of Medicine
Michael Gale	University of Texas Southwestern
Rajen Koshy	NIAID, NIH
Anna Lok	University of Michigan
Christopher Walker	The Ohio State University

## B. 研究目的

アジア諸国の肝炎・肝癌の制御。

## C. 研究方法

上記した目的の達成に向けて、班員の夫々が下記Dで述べる夫々の方法を用いて研究を実施した。

<倫理面への配慮>

行った全ての研究は、個人情報保護を旨とする倫理規定を厳守しつつ行われた。

## D. 研究結果及び考察

### 1. HCV のウイルス學:

HCV に対する感染感受性のある培養細胞は Huh7 細胞のみと考えられているが、Hu7 細胞に

は様々な亜細胞株が存在し、また、クローニングによっても様々な性質の細胞が得られる。感染感受性を規定している因子の一つとして CD81 が同定された(脇田班員)。

### 2. HCV の分子疫學:

NS2 領域を break point とする recombinant HCV strain, HCV-RF1\_2k/1b, が旧ソ連地域に広く分布していることが判明した(溝上班員)。

### 3. HCV 感染のウイルス・宿主相關:

PPAR $\alpha$  タンパクは HCV コア遺伝子 Tg 肝において核に蓄積し、cyclin D1 や ACO 等の PPAR $\alpha$  ターゲット遺伝子産物も同様に増加していた。PPAR $\alpha$  の持続的な活性化無しでは肝脂肪化も肝癌も生じないことが明らかになった。コア蛋白がもたらすミトコンドリア機能障害、電子伝達系の障害が PPAR $\alpha$  活性化によって更に増悪し、脂肪酸を介した「負のループ」が形成され、肝脂肪化、脂肪酸増加、酸化ストレス産生、細胞増殖遺伝子発現増加という一連の現象を次々と惹起して、最終的に肝癌の発生へと至ると考えられた(小池班員)。

### 4. HCV 感染の免疫:

C 型慢性肝炎患者 MDC では TLR2、TLR4、RIG-I の発現が亢進しているにも関わらず、TLR3、TLR4 の刺激によるサイトカイン誘導は低下しており、下流でのシグナル伝達阻害機構の存在が示された(考藤班員)。

### 5. 亜細亜に於ける HBV/HCV/HEV/HIV の疫學:

インドネシアのサンギヘ・タラウド諸島(フィリピンとの国境近傍)の首都タフナで住民検診を実施し、HBV、HCV、HEV、HIV-1 の感染状況を調査したところ、HBV と HEV が高度侵淫している実態はインドネシア国内の他地域と同様であったが、離島であることが幸いしたか、HCV と HIV-1 の感染者は皆無であった。数年前にスタートした HBV vaccination の効果で、若年者に HBs 抗体陽性者が増加しつつあることが歓迎されたが、vaccination の coverage は未だ 100%に達していない。当地の HBV carrier からは genotype C5 に属する genome が採取された(三代班員)。

## E. 日米合同會議

2008年1月25日～27日、テキサス州ガルベトンに於いて、第29回USJCMSP Hepatitis Panel日米合同會議を、同免疫部會と合同で、Hepatic Inflammation and Immunity (HII) Meetingとジョイントさせて開催した。此のHII meetingのObjectiveは肝臓における病原体、腫瘍、自己抗原に対するInnate/Adaptive Immunityの調節機構と肝疾患への関与についてのState-of-Artを提供することであり、2日半に渡り、7セッション計41人の研究者から発表があった。主な内容は肝臓における抗原提示機構とtolerance誘導、Toll-like receptorやRIG-Iなどのウイルス感知機構、NKT細胞による細菌感知機構、肝炎ウイルスによるT細胞機能低下機序、肝線維化や肝細胞障害における星細胞、NK細胞、NKT細胞の関与、自己免疫性肝疾患発症機序などであった。肝臓には肝細胞、非実質細胞、免疫細胞が存在しており、多様な細胞の相互作用により外来抗原や自己抗原に対する複雑な免疫応答が形成されている。疾患病態の理解のためにはSteady stateでの免疫応答の解析に加えて、炎症、担癌状態での変化を解明する必要があることが強調された(詳細は考藤班員による参加記参照→次頁)。

一方、Business meetingに於いては、2008年度の日米合同會議は10月1-3日にJDDW2008の肝臓學會大會に同期させて東京で開催し、翌年3月にはHBVのDrug Resistanceに関する會議をAPASLと共催して香港で開催し、2009年度にはFunctional Genomicsに関する會議をエイズ部會と共催して米國內の何處かで実施する提案が為され、大筋での合意を見た。

## F. 苦言

最後に特記すべきことがある。本研究班の性格上、調査研究や會議の為に亜細亞諸國や米國への班

員の海外渡航は不可避免的に重要なのであるが、その遂行の為に「海外渡航旅費は全体予算の20%以下に留めるべし」という現行の規定が大きな障害になっている。研究試薬等に要する経費は、夫々が主宰する研究班のグラントで賄い得る研究者達が大半を占める本研究班の如き存在の場合には、本来の主目的であるところの國際協力活動を眞に推進させる「オカネの使い方」を許容すべく、関係者に強く再考を促し度い。

## G. 研究発表 (此處には班長分のみ示す; 他は研究成果一覧を参照)

Wenny Astuti Achwan, Zainul Muttaqin, Edy Zakaria, Sulaiman Amangongu Depamede, Mulyanto, Suwignyo Sumoharjo, Fumio Tsuda, Kazuaki Takahashi, Natsumi Abe, Shunji Mishiro. Epidemiology of Hepatitis B, C, and E Viruses and Human Immunodeficiency Virus Infections in Tahuna, Sangihe-Talaud Archipelago, Indonesia. Intervirology 2007;50:408-411

Kojiro Michitaka, Kazuaki Takahashi, Shinya Furukawa, Gaku Inoue, Yoichi Hiasa, Norio Horiike, Morikazu Onji, Natsumi Abe, Shunji Mishiro. Prevalence of hepatitis E virus among wild boar in the Ehime area of western Japan. Hepatol Res 2007;37:214-20

Akinori Tamura, Yohko K Shimizu, Torahiko Tanaka, Kazumichi Kuroda, Yasuyuki Arakawa, Kazuaki Takahashi, Shunji Mishiro, Kazufumi Shimizu, Mitsuhiro Moriyama. Persistent infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma. Hepatol Res 2007;37:113-20

Masami Koike, Kazuaki Takahashi, Shunji Mishiro, Atsushi Matsui, Mie Inao, Sumiko Nagoshi, Akihiko Ohno, Satoshi Mochida, Kenji Fujiwara. Full-Length Sequences of Two Hepatitis E Virus Isolates Representing an Eastern China-Indigenous Subgroup of Genotype 4. Intervirology 2007;50:181-189

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許:なし.
2. 実用新案登録:なし.
3. その他:なし.

## Readers Board

### 国際学会見聞記

(裏話)

1986年に行われた佐藤-ジョンソン日米首脳會談の共同コミュニケに端を発し、外務-文部-厚労三省によって推進されて来たところの日米醫學協力研究會 (USJCMSP) の中に、肝炎専門部會 (略称『日米肝炎』) というのがある。日本側部會と米國側部會とが共同で開催するシンポジウムとビジネス・ミーティング (略称『日米合同會議』) は、日米間で逐年交互開催されて来ており、2007年度は米國の當番であった。日米合同會議は、西岡久壽彌先生と Robert Purcell が部會長だった頃までは、肝炎部會が單獨でシンポジウム等の開催を行って来たが、米國側部會が Stan Lemon に交代してからは、折角の機會だから何か別の會議とジョイントで開催しようとして、例えば2003年度はガルベストンで HII (後述参照) と、2005年度はハワイで HEPDART と、2006年度は京都で APASL とジョイントさせた形で実施した。2007年度は再び HII との共同開催になったが、今回は肝炎部會-免疫部會の共同開催でもあり、これは日米肝炎史上初の試みだから、画期的な會だったのである。而るに、あろうことか、日本側部會長 (= 三代俊治) が渡航直前になって禁足状態に陥るという大チョンボを冒し、然様な画期的合同會議に日本側は會長不在で参加する羽目になった。だからという譯でもあるが、今回の HII がどういう會であったのかを讀者に紹介する為に、日本側肝炎部會から派遣した5名の代表團のうちの考藤達哉先生に、参加記を書いて頂くこととした。御快諾頂いた考藤先生に深謝すると共に、敢えて「參戰記」という勇ましいタイトルで書いてくれた考藤先生の意氣込みに心からエールを贈りたい。

編集委員長 三代俊治

### Third Hepatic Inflammation and Immunity

January 25-27, 2008

Galveston, Texas

參戰記

はじめに

メキシコ湾岸に浮かぶガルベストン島はきっと暖かい筈という勘違いのため、薄着で来てしまったことを

後悔しながら会場のホテルに到着したのは、1月24日の夜9時を過ぎてからだった。大阪を出てから約24時間が過ぎており、体内時計が何時かを認識できないまま、溝上先生、小池先生とビールとサラダ、サンドイッチで遅い夕食を取った。部屋に引き上げてからも何処かに運ばれていくような浮遊感のためにか、暫く寝付けなかった。

翌25日、朝8時、Meeting コーディネーターの Dr. Stanley Lemon, Dr. Chris Walker の鳴らすハンドベルの合図によって第3回 Hepatic Inflammation and Immunity (HII) ミーティングが始まった。本ミーティングは日米医学協力研究會 (US-Japan Cooperative Medical Science Program, USJCMSP) の肝炎部會 (Hepatitis Panel) と免疫部會 (Immunology Board) の例会との合同開催であった。USJCMSP のミーティングは2004年に40回記念會議が京都で開催されており、筆者も参加させていただいた。今回の會議には肝炎パネルメンバーとして名古屋市大溝上雅史先生 (団長の三代俊治先生欠席のため、今回の団長を務められた)、東京大小池和彦先生、国立感染研脇田隆字先生、そして筆者が参加した。また免疫部會のメンバーとして東北大菅村和夫先生、理研齊藤隆先生、京大稲葉カヨ先生、藤田尚志先生、大阪大審良静男先生、富山大高津聖志先生が参加された。

今回の HII の Meeting Objective は肝臓における病原体、腫瘍、自己抗原に対する Innate/Adaptive Immunity の調節機構と肝疾患への関与についての State-of-Art を提供することである。2日半に渡り計41人の研究者が発表する内容を全て覚醒して聴くこと、そして理解することは到底不可能であり、その Quality の高さをご紹介できないのは残念であるが、筆者の独断と個人的興味から印象に残った内容をいくつか紹介させていただくことにしたい。

### 肝臓における抗原提示機構と tolerance 誘導

初日の最初のセッションでは肝臓での tolerance 誘導の機序に関して、肝臓での抗原提示システムの特殊性に焦点が当てられた。肝移植、ウイルス肝炎などではグラフト生着やウイルス持続感染成立に tolerance の関与が想定される。肝臓には肝実質細胞以外に非実質細

胞と免疫細胞が存在する。従来、肝で起こる非自己抗原に対する免疫反応の priming の場合はリンパ組織であると考えられて来たが、Dr. Bertolino は肝内でも CD8<sup>+</sup>T 細胞の primary activation が起こっており、肝で priming された CD8<sup>+</sup>T 非細胞は脾臓で priming された細胞とは異なり、細胞障害活性が低く肝炎を起こさないこと、速やかに肝から clear されることを示した。また clear されない CD8<sup>+</sup>T 細胞も pro-apoptotic 分子である Bim を高発現しており、容易に apoptosis に陥ることが示された。これは肝で priming された CD8<sup>+</sup>T 細胞が肝臓では機能不全であることを示しており、tolerance への関与を示唆している。Dr. Crispe も肝細胞特異的な遺伝子導入システムを用いて、肝細胞が確かに T 細胞を priming できることを報告した。一方、非実質細胞も抗原提示能力を持つことが明らかになっている。Dr. Knole は肝類洞壁内皮細胞 (liver sinusoid endothelial cell, LSEC) が naive CD8<sup>+</sup>T 細胞と抗原存在下で相互作用することで、B7-H1 (PD-L1) が LSEC 側に誘導され、CD8<sup>+</sup>T 細胞側の PD-1 を介して tolerance が誘導されることを報告した。また Dr. Winau は星細胞が vitamin A 貯蔵、肝線維化、血流調節などの機能以外に、MHC クラス I, クラス II, CD86, CD1d などを発現し抗原提示能を持つこと、T 細胞や NKT 細胞を活性化し、Listeria monocytogenes 感染に対して防衛的に働いていることを明らかにした。Dr. Thomson は樹状細胞 (DC) サブセットのうち plasmacytoid DC が脾臓より肝臓に集積しており、腸管からの endotoxin に対し感受性の低下を来とし、他の TLR リガンドに対する感受性も低下していることから tolerance 誘導への関与の可能性を示した。肝臓での免疫反応はこれらの様々な細胞のダイナミックな相互作用により規定される。しかし、更に炎症という因子が加わった場合、steady state での現象とは全く異なる反応が起こる可能性が高い。今後は炎症肝、傷害肝での免疫反応の解析が必要と思われた。

#### ウイルス感染認識機構

初日午後のセッションでは、審良先生が DNA ワクチンの細胞性免疫 (CD4<sup>+</sup>T 細胞, CD8<sup>+</sup>T 細胞)、液性免疫誘導機構に TBK-1 が必須の分子であること、藤田先生が RIG-I の C 端に存在する repressor ドメインが RNA の 5'-ppp 構造を認識することで、宿主の RNA とウイルス由来の RNA を区別しているという、ウイルス認識機構の最新の知見を紹介された。HCV 感染による TLR/RIG-I 系の抑制に関しては、既に Dr. Lemon や Dr. Gale

のグループが NS3/4A プロテアーゼが TLR3, RIG-I のアダプターである TRIF, IPS-1 を切断することで、I 型 IFN や ISG の誘導を阻害するメカニズムを報告している。今回の HII では Dr. Gale は HCV が一過性に IRF-3 の活性化を介して肝での炎症を惹起すること、慢性期では IPS-1 切断を介してこの系が阻害されることを示した。一方 Dr. Lemon は持続感染しない A 型肝炎ウイルス (HAV) のレプリコン細胞においても、IPS-1 切断を介して RIG-I 系の阻害が認められることから、IPS-1 切断のみでは HCV の持続感染機序を説明できないとした。HAV は PKR を活性化するが、HCV は PKR を活性化しないことから、HCV は IPS-1 のみならず複数の分子への干渉を介して持続感染を成立させている可能性があることを示した。NS3/4A プロテアーゼ阻害剤 (Telaprevir など) の臨床への導入が期待されているが、強力な抗ウイルス作用に加えて、IPS-1/TRIF の切断阻害によって IFN 誘導能の回復が肝細胞や免疫細胞で得られるかどうか興味深い。

#### 肝線維化と Innate Immunity

2 日目の最初のセッションは肝細胞障害、線維化における非実質細胞 (星細胞, Kupffer 細胞など) や NK 細胞の役割、TLR4 を介した腸管由来細菌の関与に焦点が当てられた。肝での持続的な炎症が線維化を促進すること、また線維化には星細胞の活性化と myofibroblast 化が重要であることは既に知られている。Dr. Brenner は腸管由来の LPS が肝内の星細胞に発現する TLR4 を介して TGF- $\beta$  の pseudo-receptor である BAMBI の発現を抑制し、それによって TGF- $\beta$  によるシグナル伝達が亢進し線維化が進展すること、一方 LPS が TGF- $\beta$  の供給源となる Kupffer 細胞を活性化し、遊走させることで線維化が更に亢進されることを報告した。TLR4, MyD88 などの KO マウスを用いて、星細胞, Kupffer 細胞それぞれの役割をスマートかつエレガントに証明しており、感銘を受けた。Dr. Friedman は星細胞のみならず CD8<sup>+</sup>T 細胞が線維化に促進的に働くこと、また NK 細胞は TRAIL の系を介して星細胞を障害し、線維化を抑制する方向に働くことを示した。Dr. Gao も傷害肝では早期に星細胞が活性化し、retinoic acid を介して NK 細胞の活性化リガンド (RAE-1) が発現し、RAE-1 が NK 細胞の NKG2D を介して NK 細胞を活性化すること、また活性化 NK 細胞が TRAIL によって星細胞を障害することを示した。しかし障害が遅延し、星細胞が full activation すると retinoic acid が枯渇し RAE-1 を発



現できず、NK細胞による障害に抵抗性となるという興味深い機序を報告した。

#### HALT-C トライアルにおける免疫反応

Dr. Morishima は IFN 無効例に対して線維化進展阻止を目指した PEG-IFN $\alpha$ 2a/リバビリン治療後 PEG-IFN $\alpha$ 2a 少量長期投与のトライアル (HALT-C) における T 細胞免疫反応の結果を報告した。HALT-C トライアルでは様々なサブ解析が行われているが、主な検討項目は長期 IFN 投与の線維化進展阻止効果の評価であろう。2007 年の AASLD で Dr. Bisceglie が Late breaking セッションで、少量長期投与 3.5 年の経過では抗炎症効果、HCV RNA 量減少効果は得られたものの、線維化進展阻止効果は得られなかったと発表した。Dr. Morishima は治療前の CTL 反応は ALT 値との相関を認めたが、CD4<sup>+</sup>T 細胞反応や CD8<sup>+</sup>T 細胞反応は治療経過中に低下し、治療効果や予後とは関連しなかったと発表した。C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN $\alpha$ /リバビリン併用療法による HCV 排除に免疫反応の増強が必要か否かに関しては未だに議論が分かれるところである。抗ウイルス治療における免疫系の意義に肯定的な意見を持つ筆者らにとっては、やや disappointing な結果であった。

#### T 細胞機能不全と PD-1, CD137

HCV 感染症では抗原特異的 CD4<sup>+</sup>T 細胞、CD8<sup>+</sup>T 細胞の機能不全が報告されている。その機序に関しては不明な点が多いが、抗原過剰状態が惹起する T cell exhaustion がその機序の一つと考えられている。T cell exhaustion の誘導に T 細胞に発現する PD-1 が関与しており、抗原提示細胞の PD-L1 (B7-H1) との結合により T 細胞反応が減弱すること、PD-1/PD-L1 の結合阻止によって T 細胞反応が回復することが報告されている。Dr. Grakoui は HCV 特異的 CD8<sup>+</sup>T 細胞における PD-1 高発現と IL-7 レセプター (CD127) の低発現が T 細胞機能不全に関与すること、機能不全 T 細胞が肝臓に集積していることを示した。また Dr. Ahmed は LCMV の感染マウスを用いて、PD-1/PD-L1 のブロックが抗ウイルスワクチンの効果増強作用があることを示した。ヒト HCV 感染症においても PD-1/PD-L1 は治療標的になり得る可能性がある。Dr. Klenerman からは HCV 特異的 CD8<sup>+</sup>T 細胞に NK 細胞レセプターである CD137 が高発現しており、IFN- $\gamma$  や TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインの産生能は高いものの、細胞障害性分子 (グ

ランザイム B や パーフォリン) の産生能や増殖能は低いことが示された。これは HBV、CMV など他のウイルス特異的 CD8<sup>+</sup>T 細胞では認められない性質であり、HCV 特異的な T 細胞分化異常の存在を示唆している。T 細胞への HCV 直接感染の効率は低いことを考えると、肝という免疫環境の場としての特殊性や、免疫細胞への感染を必要としない機能修飾因子の解明が必要と思われる。

#### NKT 細胞と細菌感染認識機構

ウイルスや細菌などの病原体認識と免疫反応の活性化には、樹状細胞、NKT 細胞、NK 細胞などの Innate lymphocyte が関与する。Dr. Kronenberg は細菌感染における NKT 細胞の活性化には、樹状細胞などの抗原提示細胞からのサイトカインを必要とする間接的な機序と、必要としない直接的な機序が存在することを示した。間接的機序では CD1d によって提示されるのは正体不明の内因性抗原である一方、直接的機序では Sphingomonas の glycosphingolipid や Borrelia (Lyme 病の原因菌) の diacylglycerol が CD1d によって NKT 細胞に提示されるという。TLR や RIG-I によるウイルス認識機構に関する知見の集積に加え、細菌の Lipid 抗原センサーとしての NKT 細胞の研究も非常に進歩している印象を受けた。NKT 細胞は細菌感染に対して常に防衛的に働く訳ではなく、炎症を惹起する場合もある。従来、PBC の発症に何らかの細菌感染が寄与する可能性が報告されている。Dr. Bendelac は *Novosphingobium aromaticivorans* という細菌が肝特異的に NKT 細胞を活性化し、胆管障害性の自己反応性 T 細胞を誘導する可能性を提示した。

#### 仕事の質とプレゼンテーションスキル

国際学会に参加していつも感じることは、欧米研究者達の Presentation の巧みさである。仕事の質の高さを示しながら聴衆に応じて噛み砕いた Presentation をすることは、実は相反することであり、そのバランスは非常に難しい。一般的に日本の学会等では、質を追及するあまり一枚のスライドに過剰な情報を盛り込み過ぎて、発表者自身が説明に急ぎ立てられ余裕を失っている傾向がある。今回の HII での発表を聞いて思うことは、優れた Mentor は優れた Presenter であるということ。そして説得力は決して過剰な情報から生まれるものではなく、仕事の意思が明確な一つのストーリーから生まれるということであった。中でも Dr. Irwin

AriasとDr. Frank Chisariは素晴らしいPerformerであり、若手の研究者を挑発するという意味で優れたアジテーターであった。

### Hospitality, そして「こちらヒューストン」

今回のHIIミーティングではセッション毎に3~4人の発表者が配置され、セッションの最後に発表者が壇上に上がり、質疑応答が20分程度行われた。質問の内容もレベルが高く、発表内容の理解が深まったように思う。しかしこの形式は、筆者たち non-native にとっては、もし質問が来ないと寂しいと思う反面、意思を英語で伝える難しさを感じる所でもあった。個人的なことになるが、筆者の発表に対しては事前に想定していた質問がDr. Szabo, Dr. Lemon 達から出され、プレゼンの意図と聴衆の理解が合致した幸福な達成感を得ることが出来た。

2日半の間、参加者達は会場のホテルにほぼ缶詰状態となったが、HostのDr. Lemon, Dr. Walker 達の配慮によって不自由を感じることはなかった。朝食、ランチは全て会場隣で提供され、2日日夜の参加者全員でのreception, 3日日夜の日米肝炎パネル、免疫部会メンバーでのsea food partyなど料理、酒、そして会話を楽しませていただいた。

3日目の午後、全ての発表が終わる少し前に、溝上先生、小池先生、脇田先生、藤田先生と会場を抜け出し、NASA ツアーへ出掛けた(写真)。感染研からUTMBに留学中の鈴木亮介先生、Petersラボへ留学中の吉河智城先生に案内をしていただいた。広大な敷地内に点

在する施設をカートで巡るツアーは寒かったが、アメリカが無邪気に宇宙開発の未来を信じて、惜しげもなく巨費を投入していた頃の幸せな空気を感じることができた。

このツアーで一番興奮されていたのは間違いなく小池先生で、アポロ11号が月面着陸を達成した頃の思い出を熱く語っていただいた。

小池先生、「こちらヒューストン、ヒューストン… (by 西山千)」でしたっけ？

2008年02月27日

大阪大学大学院消化器内科学 考藤達哉



The Lone Star Seven?

右より藤田尚志先生、小池和彦先生、筆者、溝上雅史先生、脇田隆字先生、鈴木亮介先生、吉河智城先生

## II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（社会保障国際協力推進研究事業）

分担研究報告書

## C型肝炎ウイルス培養細胞を用いた研究

分担研究者 国立感染症研究所・ウイルス第二部 部長 脇田 隆宇

研究要旨 C型肝炎ウイルス（HCV）の研究が進まなかった最大の理由は、培養細胞でウイルスが感染増殖できなかったことである。我々が分離した JFH-1 株により初めて HCV のウイルス培養が可能となった。しかし、HCV に対する感染感受性のある培養細胞は Huh7 細胞のみと考えられている。そこで本研究では、Huh7 細胞を様々なソースから取得してその感染感受性の違いを検討する

## A. 研究目的

未だに多くの C 型肝炎ウイルス（HCV）感染者が世界中に存在する。HCV 感染は持続感染化し、肝細胞癌を発症する重大な感染症である。しかし、インターフェロンおよびリバビリンによる治療効果は不十分であり、新たな治療薬開発が望まれる。これまでに HCV の治療薬開発が進まなかった大きな理由の 1 つは、培養細胞でウイルスが感染増殖できなかったためである。Lohmann らが Con1 株の HCV レプリコンを開発して以来、培養細胞で HCV 複製に関する研究が可能となった。しかし、Con1 株の HCV 全長遺伝子を導入したレプリコンでもウイルス粒子は分泌されなかった。一方、我々が劇症肝炎患者から分離した JFH-1 株は、これまでの HCV 株と比較して複製能力が非常に高く、この JFH-1 株の合成全長 RNA を培養細胞に導入することにより感染性のウイルス粒子を分泌した。これまでの研究では JFH-1 株と肝癌細胞である Huh7 細胞の組み合わせのみでウイルス感染増殖が可能である。

そこで本研究では JFH-1 株を用いて Huh7 細胞の様々なクローンや異なる研究室で維持され

ている Huh7 細胞およびその他の培養細胞を用いて、HCV の感染増殖の違いとそれに関与する因子の同定を試みる。

## B. 研究方法

## 1. 様々な Huh7 細胞の入手

Huh7 細胞を限界希釈法によりクローニングする。クローニングした細胞株のなかで増殖維持可能な細胞を解析に用いる。また、国内外の研究室より異なる性質をもつ Huh7 細胞を入手する。

## 2. 細胞の HCV に対する感染感受性および複製感受性の解析

シングルセルクローニングされた Huh7 細胞の HCV に対する感染感受性を JFH-1 株を用いて作製した感染性ウイルスにより検討する。さらに、JFH-1 株のサブジェノミックレプリコンを用いて RNA 複製に関する感受性を解析する。

## 3. 宿主因子の解析

HCV の感染に関与する宿主因子の細胞表面発現を FACS により解析する。さらに重要と考えら

れる因子については RNAi によるノックダウン実験および発現プラスミドトランスフェクションによる強制発現により解析する。

#### (倫理面への配慮)

各種研究材料の取り扱い及び組換え DNA 実験は、適切な申請を行い承認を受ける。また、本研究で使用するヒト由来試料はすでに樹立された細胞株であり倫理面での問題はないと考えられるが、新たにヒト組織などを使用する必然性が生じた場合には、文部科学省等でまとめられた「ヒトゲノム、遺伝子解析研究に関する倫理指針」及び、平成 13 年 3 月 29 日付 12 文科振第 266 号文部科学省研究振興局長通知に則り、当該研究機関の医学研究倫理審査委員会に申請し、インフォームドコンセントに係る手続きを実施し、提供試料、個人情報等を厳格に管理保存する。

### C. 研究結果

#### 1. Huh7 細胞亜株の樹立と Huh7 細胞の入手

Huh7 細胞を限界希釈法によりシングルセルクローニングして約 70 クローンの Huh7 細胞亜株を樹立した。また、従来より維持培養している Huh7 細胞および、Scripps 研究所より入手した Huh7-FVC 細胞および Huh7.5.1 細胞を解析に用いた。

#### 2. 感染感受性の解析

JFH-1 株の全長 RNA を Huh7 細胞にトランスフェクションして培養上清中に分泌される HCV 粒子を濃縮して感染実験に使用した。クローニングして得られた Huh7 細胞クローンでは感染感受性が親細胞よりも高いもの、同程度のもの、低

いもの全く感染感受性がないものが得られた。また、我々が維持培養している Huh7 細胞よりも Huh-FVC および Huh7.5.1 は感染感受性が高いことが明らかとなった。

#### 3. 複製感受性の解析

JFH-1 株のサブジェノミックレプリコンを用いて各細胞での HCV RNA 複製効率を解析した。複製効率に関してもクローン間で異なっていたが、感染感受性とは一致しなかった。クローン 25 では感染感受性が全く失われていたが、RNA 複製は非常に効率が良かったことが明らかとなった。Huh-FVC および Huh7.5.1 は我々が維持している Huh7 細胞よりも複製効率は低かった。

#### 4. 細胞表面マーカーの解析

感染感受性に関与すると考えられる、HCV のレセプター候補分子、CD81、SR-BI、LDLR などの細胞表面発現を FACS により解析した。その結果、感染感受性と CD81 の発現には相関関係があることが明らかとなった。クローン 25 には CD81 が全く発現していなかった。

#### 5. CD81 分子の解析

我々が維持している Huh7 細胞では CD81 の発現が低くまた、発現強度が様々であり、CD81 の発現程度が異なる細胞が混在していることがわかった。Huh-FVC および Huh7.5.1 では CD81 発現は良好であった。また、CD81 の発現のないクローン 25 に CD81 を強制発現することにより、感染感受性が回復することが明らかとなった。このクローン 25-CD81 は感染感受性が親細胞よりも高いことが明らかとなった。

## D. 考察

Huh7 細胞は肝臓癌由来の培養細胞株で HCV に対する感染感受性を有する。しかし、Huh7 細胞には感染感受性の異なる亜細胞株が存在した。この亜細胞株間の感染感受性は細胞表面の CD81 の発現によって第一義的に規定されていることが明らかとなった。しかし、さらに RNA 複製効率にも差があることから、複数の宿主因子の関与が考えられ、さらに解析中である。

## E. 結論

Hu7 細胞には様々な亜細胞株が存在し、また、クローニングによっても様々な性質の細胞が得られる。感染感受性を規定している因子の一つとして CD81 を同定した。

## F. 研究発表

## 1. 論文発表

1. Zeisel MB, Koutsoudakis G, Schnober EK, Haberstroh A, Blum HE, Cosset FL, Wakita T, Jaeck D, Doffoel M, Royer C, Soulier E, Schvoerer E, Schuster C, Stoll-Keller F, Bartenschlager R, Pietschmann T, Barth H, Baumert TF. Scavenger receptor class B type I is a key host factor for hepatitis C virus infection required for an entry step closely linked to CD81. *Hepatology*. 2007 46(6):1722-31.
2. Ariumi Y, Kuroki M, Abe K, Dansako H, Ikeda M, Wakita T, Kato N. DDX3 DEAD-box RNA helicase is required for hepatitis C virus RNA replication. *J Virol*. 2007 81(24):13922-6.
3. Miyanari Y, Atsuzawa K, Usuda N, Watashi K, Hishiki T, Zayas M, Bartenschlager R, Wakita T, Hijikata M, Shimotohno K. The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. *Nat Cell Biol*. 2007 9(9):1089-97.
4. Delgrange D, Pillez A, Castelain S, Cocquerel L, Rouillé Y, Dubuisson J, Wakita T, Duverlie G, Wychowski C. Robust production of infectious viral particles in Huh-7 cells by introducing mutations in hepatitis C

virus structural proteins. *J Gen Virol*. 2007 88(9):2495-503.

5. Murayama A, Date T, Morikawa K, Akazawa D, Miyamoto M, Kaga M, Ishii K, Suzuki T, Kato T, Mizokami M, Wakita T. The NS3 helicase and NS5B-to-3'X regions are important for efficient hepatitis C virus strain JFH-1 replication in Huh7 cells. *J Virol*. 2007 81(15):8030-40.
6. Date T, Miyamoto M, Kato T, Morikawa K, Murayama A, Akazawa D, Tanabe J, Sone S, Mizokami M, Wakita T. An infectious and selectable full-length replicon system with hepatitis C virus JFH-1 strain. *Hepatol Res*. 2007 37(6):433-43.
7. Kato T, Date T, Murayama A, Morikawa K, Akazawa D, Wakita T. Cell culture and infection system for hepatitis C virus. *Nat Protoc*. 2006;1(5):2334-9.
8. Akazawa D, Date T, Morikawa K, Murayama A, Miyamoto M, Kaga M, Barth H, Baumert TF, Dubuisson J, Wakita T. CD81 expression is important for the permissiveness of Huh7 cell clones for heterogeneous hepatitis C virus infection. *J Virol*. 2007 81(10):5036-45.
9. Kato T, Matsumura T, Heller T, Saito S, Sapp RK, Murthy K, Wakita T, Liang TJ. Production of infectious hepatitis C virus of various genotypes in cell cultures. *J Virol*. 2007 81(9):4405-11.
10. Larrea E, Riezu-Boj JI, Gil-Guerrero L, Casares N, Aldabe R, Sarobe P, Civeira MP, Heeney JL, Rollier C, Verstrepen B, Wakita T, Borrás-Cuesta F, Lasarte JJ, Prieto J. Upregulation of indoleamine 2,3-dioxygenase in hepatitis C virus infection. *J Virol*. 2007 81(7):3662-6.

## G. 知的所有権の出願・登録状況

なし

平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金（国際医学協力研究事業）

主にアジアに蔓延するウイルス性肝疾患の制御に資する為の日米合作的肝炎ウイルス基礎研究（H18-国医-指定-007）

分担研究者：名古屋市立大学 大学院医学研究科 教授 溝上 雅史  
 研究協力者：名古屋市立大学 大学院医学研究科 准教授 田中 靖人  
 研究協力者：名古屋市立大学 大学院医学研究科 助教 菅内 文中  
 研究協力者：名古屋市立大学 大学院医学研究科 研究員 Kurbanov Fuat

分担研究課題：C型肝炎ウイルス組換え遺伝子型の意義

研究要旨：2002年ロシアからHCV組換え遺伝子型RF1\_2k/1bが報告されたがその詳細な分布や臨床的意義については不明である。648例の血清を対象としたHCV-RF特異的プライマーを用いた検索において、ロシアから5例、ウズベキスタンから2例の合計7例(1.1%)のHCV-RFが検出可能であった。これら7例についてそれぞれCore/E1(440bp)およびNS5b(340bp)領域の塩基配列の解析から7本のHCV株はCore/E1領域で2k、NS5b領域で1bに分類され、HCV-RF\_2K/1b株であることが確認された。NS2領域をbreak pointとするHCV組換え遺伝子型RF1\_2k/1bは旧ソ連地域において広く分布していると考えられた。HCV-RFの分布、ウイルス学的及び臨床的特徴についてはさらに様々なHCV組換え遺伝子型検出プライマーを用いてアメリカ合衆国、南米、ヨーロッパ地域における検索とともに、本邦におけるHCV組換え遺伝子型RF\_2a/1bやRF\_1b/2aの検出とIFN治療効果や臨床像との関連についての検討も今後重要な課題と思われる。

A. 研究目的

C型肝炎ウイルス(HCV)は現在までに6型の遺伝子型に分類され、HCVウイルス量とともにその遺伝子型はインターフェロン(IFN)治療の著効率を規定する重要因子とされている。

2002年ロシアからNS2領域にbreak pointの存在する前半がHCV-2k、後半がHCV-1bのHCV組換え遺伝子型(HCV-RF)1\_2k/1bがはじめて報告された[1]。その後ペルーのRF2\_1a/1b、フィリ

ピンのRF3\_2b/1b、ベトナムのRF4\_2i/6pが報告されているがその詳細な分布や臨床的意義については不明である[2-5]。これらの報告はHCV遺伝子の構造領域と非構造領域のそれぞれ一部分のみを用いた検討であるため、HCV-RFの分布や頻度については過小評価されている可能性がある。さらに異なるHCV遺伝子型のチンパンジーへの感染実験によりHCV-RFがminorクローンで存在することが報告され[6]、このことは多くのHCV-RFが非組換え遺伝子型

(RF)株とともに minor クローンで存在している可能性を示唆しているものと考えられる。

異なる H C V 遺伝子型の重複感染は Injection drug users ( I D U ) を対象とした検討から報告されており [7, 8]、これら対象における H C V—R F の存在が示唆される。本検討では H C V—R F \_2k/1b の検出法の開発とともに、旧ソ連地域、欧州、モンゴル及び本邦の I D U を中心とした H C V 感染者における H C V—R F の分布、頻度について検討をおこなった。

## B. 研究方法

2000年から2006年の期間に旧ソ連地域、欧州、モンゴルおよび本邦から集積された648例のHCV-RNA陽性血清を対象とした。症例背景については表1に示した。HCV-RF\_2k/1bに特異的プライマーを作成後、全症例を対象としてPCR法にてHCV-RFの検索を施行した。また全症例においてCore/E1(440bp)およびNS5b(340bp)領域の塩基配列の決定を行い各国におけるHCV遺伝子型分布を検討した。

表1 各国HCVキャリア648例の臨床背景とHCV遺伝子型分布および組換え遺伝子型の検出

	英国	ブルガリア	リビア	ロシア	ウズベキスタン	モンゴル	日本	日本
症例数	60	20	9	280	135	67	60	37
年齢(歳)	44±9	23±7	36±16	29±12	30±10	53±14	45±10	46±16
性別(男/女)	33/17	13/7	6/3	176/106	115/20	25/42	27/23	27/10
感染経路	BT&IDU	IDU	BT	BT&IDU	BT&IDU	BT	BT	IDU
RF-2k/1b(%) (組換え遺伝子型)	0	0	0	5(2)	2(1)	0	0	0
Genotype(%)	1a: 30(60) 1b: 11(22) 3a: 7(14) 4: 2(4)	1a: 12(60) 1b: 2(10) 3a: 6(30)	1a: 1(11) 1b: 4(45) 2c: 1(11) 3a: 3(33)	1b: 153(54) 2a: 14(5) 2c: 10(4) 3a: 98(35)	1a: 2(1) 1b: 67(100) 2a: 6(4) 3a: 69(53)	1b: 67(100) 2a: 12(24) 2b: 10(20)	1b: 29(24) 2a: 24(65) 2b: 6(16)	1b: 7(19) 2a: 24(65) 2b: 6(16)

RF, Recombinant form; BT, Blood transfusion; IDU, Intravenous narcotic drugs use experience.

## C. 研究結果

### 1. HCV組み換え遺伝子型(RF)特異的プライ

### マーの作成

既報のHCV-RF\_2k/1bのNS2領域のbreak pointを含むように2948から3295番の塩基配列をターゲットとして、5末端側にHCV-2kおよび2a、3末端側にHCV-1bに特異的な seminested-PCR用のプライマーを作成した(図1a)。RF\_2k/1bクローン株とnon-RFの1bクローン株をそれぞれ作成後、RF検出用の特異的プライマーの感度と特異性について検討した。その結果RF\_2k/1b株は100copy/mlの感度でminor cloneでの存在下においても検出が可能であることが示された(図1b)。またnon-RF 2a、2k、3aクローン株との競合的検討においても同様の感度でHCV-RF\_2k/1bは検出可能であった。

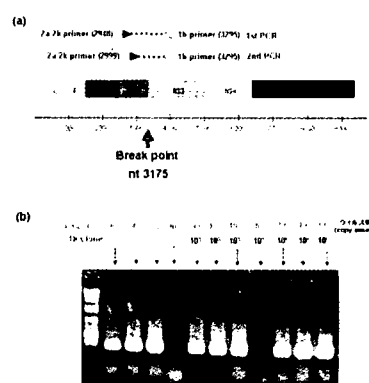


図1 HCV 組換え遺伝子型特異的プライマーの作成およびその感度と特異性：(a) 既報のNS2領域のbreak pointを含むように seminested-PCR用のプライマーを作成。(b) HCV-RF\_2k/1bとnon-RF 1bのクローンを使用して作成プライマーの感度と特異性について検討。



## 2. 各国におけるHCV組み換え遺伝子型(RF)の検出と遺伝子型分布

648例の血清を対象としたHCV-RF特異的プライマーを用いた検索において、ロシアから5例、ウズベキスタンから2例の合計7例(1.1%)のHCV-RFが検出可能であった。これら7例についてそれぞれCore/E1 (440bp) およびNS5b(340bp)領域の塩基配列の決定を行い、DNAデータバンクに登録されている既報のHCV-RF株とともに系統解析を施行した(図2)。ロシアとウズベキスタンから検出された7本のHCV株はCore/E1領域で2k、NS5b領域で1bに分類され、HCV-RF\_2k/1b株であることが確認された。興味深いことにこれら7本の株は既報のHCV-RF\_2k/1b株とクラスターされ、同じ遺伝子型のnon-RFとは異なるクラスターを形成した。

次に7本のRF\_2k/1b株の組換えbreak pointをNS2領域の塩基配列の決定を行い検索した。その結果ロシアとウズベキスタンから検出された7本のHCV-RF\_2k/1b株は既報のロシアから分離されたHCV-RF\_2k/1b株と同様にNS2領域の3175番目にbreak pointを認めた(図3)。

HCV-RF特異的プライマーにて検出されなかった残りの641例についてもCore/E1

(440bp) およびNS5b(340bp)領域の塩基配列の決定をおこなった。両領域の結果を基にした各国における遺伝型分布を表1に示した。641例全ての対象において両領域における遺伝子型の不一致を認めなかった。

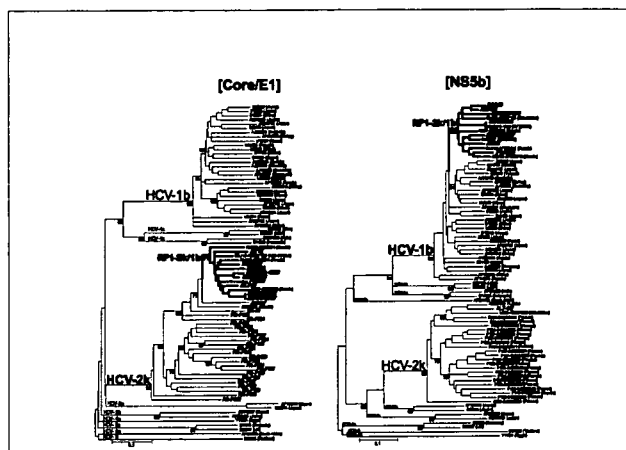


図2 Core/E1およびNS5b領域の塩基配列から作成した系統樹

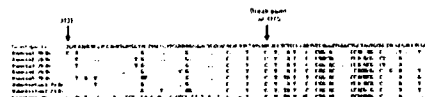


図3 HCV 組換え遺伝子型の break point (NS2 配列)

## D. 考察

2002年、ロシアのグループからロシアのSt. Petersburgという地域において5株のHCV-RFの存在が初めて報告された[1]。遺伝子解析からNS2領域の3175-3176番目にbreak pointが存在し、前半が2k、後半が1bのHCV-RF\_2k/1bであることが判明した。本研究ではこのHCV-RF株をターゲットとしてHCV-RF特異的プライマーの作成をおこない、新たに7本のRF\_2k/1b株を検出した。7本のbreak pointはNS2領域の3175番目に認められ、既報のロシアからのRF\_2k/1b株とほぼ同一であった。

HCV-RF株が起こる明らかな機序について

は不明であるが、宿主内に異なる遺伝型が重複感染し複製の過程で立体構造の影響で組換え遺伝子型体が起こると推測されている。今回の648例のHCV感染者の血清からは明らかな異なる遺伝子型の二重感染と思われる症例は認めなかったが、近年世界中で覚醒剤の静脈注射などによるHCVの水平感染が増加傾向であり、同一宿主内での異なる遺伝子型の重複感染する機会も増えていると考えられ、今後HCV-RF株の増加も予想される。興味深いことにこれまでの報告ではHCV-RFのbreak pointは全てHCVの構造と非構造領域の境界近傍のNS2領域(3175-3455)に存在しており、またその5末端側の構造領域側には必ず2型のHCV遺伝子型株(サブタイプ 2b, 2i and 2k)が含まれている[2-5]。また、一般的にHCVの異なる遺伝子型の重複感染はまれとされているが、その理由としてHCV感染宿主の細胞内にいるHCV株が新たな感染HCV株の翻訳と複製の障害を行うとされており、このことは近年*in vitro*の研究でも証明されている[9, 10]。この事実から2型のHCV遺伝子型株(2b, 2k, 2e and 2i)はこの重複感染阻害機構を回避するメカニズムを有している可能性が示唆される。

本検討においてHCV-RF\_2k/1bは1bの分布が主であるロシアとウズベキスタンから検出されているがnon-RFの2k株は両国において検出されなかった。Core/E1とNS5aの系統解析からはHCV-RF株のCore/E1領域での2k配列とNS5a領域の1b配列はnon-RFのHCV株とは異なって独自のクラスターを形成していた。このことはHCV-RF\_2k/1bが共通の祖先HCV-RF株が起こった後に拡散したことを示唆する所見と考えられる。Maximum

Likelihood (ML) tree をベースとした分子時計モデルを用いた手法から、これらのHCV-RF株は共通の祖先から約45-75年前に拡散し始めたと計算されるが、現段階では検討HCV-RF株数が少ないため十分な結論とは言えず今後多数の株を用いた検討が望まれる。

## E. 結論

NS2 領域を break point とする HCV-RF1\_2k/1b は旧ソ連地域において広く分布していると考えられたが、HCV-RF の分布、ウイルス学的及び臨床的特徴についてはさらに種々の検出プライマーを作成し、対象地域及び症例数を増加させた検討が必要である。また本邦においては HCV-RF\_2a/1b や RF\_1b/2a の検出と IFN 治療効果や臨床像との関連についての検討も重要な課題と思われる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Khan A, Kurbanov F, Tanaka Y, Elkady A, Sugiyama M, Dustov A, Mizokami M. Epidemiological and clinical evaluation of hepatitis B, hepatitis C and delta hepatitis viruses in Tajikistan. J Med Virol. 2007 in press.
2. Kurbanov F, Tanaka Y, Avazova D, Khan A, Sugauchi F, Kan N, Kurbanova-Khudayberganova D, Khikmatullaeva A, Musabaev E, Mizokami M. Detection of hepatitis C virus natural recombinant RF1\_2k/1b strain among intravenous drug users in Uzbekistan. Hepatol Res. 2007. in press.
3. Kurbanov F, Tanaka Y, Elkady A, Oyunsuren T, Mizokami M. Tracing

Hepatitis C and Delta Viruses to Estimate Their Contribution in HCC Rates in Mongolia. *J Viral Hepat* 14: 667-674, 2007.

2. 学会発表

1. Kurbanov F, Tanaka Y, Maruyama I, Shimada T, Mizokami M. Interferon (IFN) Sensitivity of Natural Recombinant RF1\_2k/1b HCV strain in chimeric uPA/SCID mice. 58th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. November 2-6 2007. Boston.

2. Kurbanov F, Tanaka Y, Elkady A, Oyunsuren T, Sanduijav R, Khajidsuren O, Dagvadorj B, Mizokami M. Viral factors associated with hepatocellular carcinoma -Analysis of co-infection and viral mutations in Mongolian chronic hepatitis patients. 14th Japan-Korea Hepatitis Meeting. June 16-17 2007, Fukuoka.

3. Kurbanov F, Tanaka Y, Elkady A, Musabaev E, Azlarova A, Khan AA, Oyunsuren T, Mizokami M. Using viral gene sequences to retrieve their epidemiological history; HCV and HDV in Mongolia. [Abstract 0-171, 17th APASL Conference. March 27-30 2007. Kyoto, Japan.] *Hep Intl* 2007 Mar;1(1):32.

表1 各国HCVキャリア648例の臨床背景とHCV遺伝子型分布および組換え遺伝子型の検出

	英国	ブルガリア	リトアニア	ロシア	ウズベキスタン	モンゴル	日本	日本
症例数	50	20	9	280	135	67	50	37
年齢(歳)	44±8	23±7	36±16	29±12	30±10	53±14	45±10	46±16
性別(男女)	33/17	13/7	6/3	175/105	115/20	25/42	27/23	27/10
感染経路	BT&IDU	IDU	BT	BT&IDU	BT&IDU	BT	BT	IDU
RF-2k/1b(%) (組換え遺伝子型)	0	0	0	5 (2)	2 (1)	0	0	0
Genotype(%)	1a: 30(60) 1b: 11(22) 3a: 7(14) 4: 2(4)	1a: 12(60) 1b: 2(10) 3a: 6(30)	1a: 1(11) 1b: 4(45) 2c: 1(11) 3a: 3(33)	1b: 153(54) 2a: 14(5) 2c: 10(4) 3a: 98(35)	1a: 2(1) 1b: 56(41) 2a: 6(4) 3a: 69(53)	1b: 67(100)	1b: 28(24) 2a: 12(24) 2b: 10(20)	1b: 7(19) 2a: 24(65) 2b: 6(16)

RF, Recombinant form; BT, Blood transfusion; IDU, Intravenous narcotic drugs use experience.