

M204I の検出感度は 50 コピー、10% であった。実際にラミブジン治療を行っている患者血清を用いての検討を行い、ダイレクトシーケンス法よりも高感度に少量の M204I 変異を検出し得た。

2. C 型肝炎患者において、TLR3 の SNP C6300T は GPT 値および血小板値と関連していた。TLR3 SNP C6300T は Exon 4 に存在し、Leu412Phe アミノ酸置換により、インターフェロン β 誘導能が減弱することを明らかにした。また、OAS-1 の SNP A4119G は GPT 値および肝硬変と関連していた。OAS-1 SNP A4119G は Exon 3 に存在し、Ser162Gly アミノ酸置換により、抗 C 型肝炎ウイルス subgenomic replicon 活性が減弱することを明らかにした。

D. 考察

1. Taqman MGF プローブを用いて B 型肝炎ウイルス多剤耐性変異 M204V/I を高感度に検出可能となったことにより、ラミブジン耐性株の早期検出が可能となった。薬剤投与の変更時期を適切に判断することができるようになると期待される。
2. C 型肝炎患者においては、C 型肝炎ウイルス増殖抑制効果が弱い、あるいは、インターフェロン誘導能が弱い遺伝子型を有する患者では、肝病変が進展しやすいと考えられた。

E. 結論

1. Taqman MGB プローブを用いて、B 型肝炎ウイルス多剤耐性変異 M204I/V の高感度検出法を開発した。
2. C 型肝炎の病態、特に炎症と線維化を規定するインターフェロン関連分子 OAS-1 と TLR 3 の多型を同定した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Sermasathanasawadi R, Kato N, Muroyama R, Dharel N, Shao R-X, Chang J-H, Li C-Z, Kawabe T, Omata M. Association of IRF-7 gene polymorphism with liver cirrhosis in chronic hepatitis C patients. *Liver Int* (in press)

2) 加藤直也, 五藤忠, 小俣政男. ウイルス性慢性肝炎: 診断と治療の進歩 III. B型慢性肝炎の抗ウイルス療法 3. 抗ウイルス薬の将来. *日本内科学会雑誌* 2008; 97 (1): 50-56

2. 学会発表

Sermasathanasawadi R, Kato N, Muroyama R, Shao R-X, Chang J-H, Li C-Z, Kawabe T, Omata M. IRF-7 gene polymorphisms are associated with liver cirrhosis in chronic hepatitis C patients. 第 43 回日本肝臓学会総会 2007/6/1 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
分担研究報告書

インターフェロン耐性 HCV の分子機構に関する研究

分担研究者 加藤 宣之 岡山大学 教授

研究要旨: C 型肝炎ウイルス(HCV)がインターフェロン(IFN)に耐性を示す分子機構を解明することを目的として、今年度は全長 HCVRNA 複製細胞の長期培養により生じる HCV の遺伝的変動と IFN 感受性の変化を解析して以下のような成果を得た。(1)5種類の全長 HCVRNA 複製細胞を2年間培養して、それぞれの細胞内で複製している HCVRNA の遺伝的変動を解析した結果、 $3.5-4.8 \times 10^{-3}$ 塩基置換/ヌクレオチド/年の変異速度であることを明らかにした(2)変異様式はU→CとA→Gの頻度が高いことを明らかにした(3)培養期間に依存した遺伝的多様性の増大が観察され、新たな適応変異の出現も観察された(4)長期培養により IFN に抵抗性を示す全長 HCVRNA 複製細胞の出現頻度が増加することを明らかにした。

A. 研究目的

C 型肝炎ウイルス(HCV)の感染は肝がん患者の8割に認められており、HCV の持続感染状態である C 型慢性肝炎は肝細胞のがん化の重要な因子である。肝発がんを予防するためには、HCV を体内から排除して持続感染状態を脱することが必須である。しかしながら、C 型慢性肝炎に対する有効な治療薬はインターフェロン(IFN)しかなく、ペグIFNとリバビリンとの併用療法によっても、依然として半数は IFN に耐性を示す。本研究では、HCV がどのような分子機構により IFN 耐性を示すのかを明らかにすることを目的として、我々が開発した全長 HCVRNA 複製細胞を用いて以下に示すような実験を行った。

B. 研究方法

5種類の全長 HCV RNA 複製細胞(O, OA, OB, OD および OE)を G418 存在下長期に培養した。継代は1週間に一度行った。既に1年間以上長期培養していた

細胞を用いたので、培養開始から2年経過した時点で細胞から RNA を抽出した。1年を経過した細胞由来の RNA をともに用いて RT-PCR により全長 HCV ゲノムを増幅した。cDNA の作成には Superscript II を用い、PCR には fidelity の高い KOD-plus DNA polymerase を用いた。増幅した HCV ゲノムを pBR322MS ベクターにクローニングして、それぞれ独立的な3クローンの塩基配列の決定を行った。得られた塩基配列を相互に比較した。

HCV RNA や HCV 蛋白質を検出するためのノーザンブロットおよびウエスタンブロットは常法に従った。

細胞内における全長 HCV RNA の複製に対する IFN 感受性を調べるためにコロニーアッセイを行った。全長 HCV RNA 複製細胞を直径 10 cm のデッシュにそれぞれ 2×10^4 個播き、IFN- α (50, 100 或は 200 IU/ml)を4日ごとに添加して3週間培養した。IFN 耐性として得られたコロニーを Coomassie brilliant blue (CBB) により染

色した。

(倫理面への配慮)

本研究においては、実験及び解析に用いた材料は全てこれまでに確立されているものであり、本年度の研究にはヒトの臨床材料を用いたものがない。そのために倫理面への特段の配慮はなかった。但し、実験に使用した細胞および核酸については蒸気滅菌を施した後に廃棄した。

C. 研究成果

5種類の全長 HCV RNA 複製細胞について樹立時、1年培養時、2年培養時のそれぞれから Total RNA とタンパク質を調製し、前者についてはノーザンブロット解析、後者についてはウェスタンブロット解析を行った。ノーザンブロット解析の結果、5種類すべての細胞において11kb の全長 HCV RNA を検出した。継代とともに、HCV RNA の量が多くなる傾向が認められたが、OA細胞のみその傾向は認められなかった。また、NS5B タンパク質も容易に検出され、その発現レベルに大きな変化は認められなかった。しかしながら、コアについては、継代により検出できなくなる細胞(OB や OE 細胞を継代した場合)もあったことから、コアのエピトープ領域に変異が生じていることが示唆された。

1年および2年間培養した5種類の全長 HCV RNA 複製細胞内で複製している HCV RNA の遺伝的変動を解析した結果、ヌクレオチドの変異が経時的にかつ直線的に増大していることが分った。変異速度は $3.5\text{--}4.8 \times 10^{-3}$ 塩基置換/ヌクレオチド/年であった。これに伴い生じるアミノ酸の

置換数も経時的に増加していることが分った。ヌクレオチドの変異様式はU→CとA→G の頻度(それぞれ30%程度)が高いことが分った。このような傾向は以前 HCV レプリコン細胞で観察された変異パターンと同じであった。

NS領域において生じたアミノ酸置換の状況を調べた結果、NS3領域にはHCV RNA の複製効率を上昇させることが知られている適応変異が新たに出現して、複数個の適応変異を有するようになっていることが観察された。NS5A 領域の前半部でドメインIと呼ばれている部分(240 aa程度)には2年間の培養によってもアミノ酸置換を伴うような変異がまったく入らないことを見出した。また、細胞によっては(O細胞)、2年間の継代培養でもNS5A領域にアミノ酸置換がまったく生じないケースも観察された。NS5B 領域は保存性が高く、2年の培養によって生じるアミノ酸置換数は0個(OA と OD 細胞)〜4個(OB 細胞)と低値であった。

次に全長 HCV RNA 複製細胞を長期に継代することにより IFN に対する感受性が変化するかどうかをコロニーアッセイにより調べた。その結果、1年或は2年継代培養した細胞を用いた場合に IFN 耐性として得られるコロニーの数が樹立時の細胞を使用した場合に得られるコロニー数より多いことが明らかとなった。この現象は実験に使用した5種類の全長 HCV RNA 複製細胞に共通して認められたことから、IFN 耐性と HCV の遺伝的変動や多様性が関与している可能性が示唆された。

D. 考察

全長 HCV RNA 複製細胞を用いて今回得られた HCV ゲノムの変異速度 ($3.5\text{--}4.8 \times 10^{-3}$ 塩基置換/ヌクレオチド/年) は、以前、我々が HCV レプリコン細胞 (2HCV 株) を用いて算出した値 (3.0×10^{-3} 塩基置換/ヌクレオチド/年) より若干高い値であった。これは、HCV RNA の複製に必須ではないコア-NS2 までの領域を含んでいるためと考えられる。事実、この領域の変異速度は NS3-NS5B までの領域の変異速度より高くなっており、全体として HCV レプリコン細胞で得られた値より高い値が得られたものと考えられる。

継代による IFN 耐性効果がコロニーアッセイにより観察されたが、その原因がウイルス側の変異によるものなのか或は、細胞側の変化によるものなのかは現時点では明らかではない。全長 HCV RNA 複製細胞を長期に培養継代すると、細胞内で常時 2 本鎖 RNA ができている状態になる。HCV の NS3-4A が IFN 産生系を抑制していると考えられているが、完全ではないことが報告されている。従って、微量ながら産生される IFN が常時存在していることになり、IFN 耐性を獲得しやすい環境になっている可能性がある。これらの点を実験的に明らかにする必要があることから、次年度は IFN 耐性として得られてくる細胞コロニーを単離して、ウイルス側および宿主側要因について解析を進める予定である。

E. 結論

全長 HCV RNA 複製細胞の培養期間に依存して HCV の遺伝的変異が蓄積し、

HCV の遺伝的多様性も増大することを示した。IFN 耐性と細胞継代との関係を示唆する実験結果を得た。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Abe K, Ikeda M, Dansako H, Naka K, Kato N. Cell culture-adaptive NS3 mutations required for the robust replication of genome-length hepatitis C virus RNA. *Virus Res.* 125: 88-97 (2007).
- 2) Abe K, Ikeda M, Ariumi Y, Dansako H, Kato N. Serum-free cell culture system supplemented with lipid-rich albumin for hepatitis C virus (strain O of genotype 1b) replication. *Virus Res.* 125:162-168 (2007).
- 3) 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 (HCV) RNA replication. *J. Virol.* 81:13922-13926 (2007).
- 4) Yano M, Ikeda M, Abe K, H. Dansako H., Ohkoshi S, Aoyagi, Y, Kato N. Comprehensive Analysis of the Effects of Ordinary Nutrients on Hepatitis C Virus RNA Replication in Cell Culture. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51:2016-2027(2007).
- 5) Dansako H, Ikeda M, Kato N. Limited suppression of the interferon-beta

production by hepatitis C virus serine protease in cultured human hepatocytes.

FEBS J. 274:4161-4176 (2007).

- 6) Ikeda M, Kato N. Modulation of host metabolism as a target of new antivirals. Adv. Drug Deliv. Rev. 59:1277-1289 (2007).
- 7) Ikeda M, Kato N. Life style-related diseases of the digestive system: cell culture system for the screening of anti-HCV reagents: suppression of HCV replication by statins and synergistic action with interferon. J Pharmacol Sci. 105:145-150 (2007).

2. 学会発表

- 1) Kato N, Abe K, Mori K, Ariumi Y, Dansako H, Ikeda M. HCV genetic variability and dynamics in long-term culture of genom-length HCV RNA replicating cells. 第66回 日本癌学会学術総会、横浜、2007年 10月.
- 2) Kato N, Abe K, Mori K, Ariumi Y, Dansako H, Ikeda M. HCV genetic variability and dynamics in long-term culture of genome-length HCV RNA-replicating cells. 14th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Glasgow, UK, September, 2007.
- 3) 加藤 宣之、阿部 健一、森 京子、有海 康雄、團迫 浩方、池田 正徳. 全長HCV RNA複製細胞の長期培養により生じるHCVの遺伝的多様性. 第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年 10月.
- 4) 森 京子、阿部 健一、團迫 浩方、

有海 康雄、池田 正徳、加藤 宣之. C型急性肝炎患者血清由来の1b型 HCV レプリコン複製細胞株の樹立. 第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年 10月.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

薬剤耐性肝炎ウイルス感染の病態解明と対策に関する研究

分担研究者 横須賀 収 千葉大学大学院腫瘍内科学教授

研究要旨

B型、C型慢性肝炎患者の血清から抽出した感染ウイルスの遺伝子配列を決定し、B型肝炎では病期の進行とともに遺伝子変異が増加し、肝発癌と特定の遺伝子変異、欠失との関連が認められた。C型肝炎では PEG-IFN、リバビリン併用治療抵抗性にコア領域 70,91 番目の変異が関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

B型慢性肝炎、C型慢性肝炎における感染ウイルスの全塩基配列を決定し、各種病態、薬剤耐性、薬剤不応と関連するウイルス側因子を決定する。

B. 研究方法

凍結保存した患者血清より、DNAあるいはRNAを抽出しPCR法により増幅後、塩基配列を決定し、患者病態との関連を検討する。患者から検査の同意は得ており、ヒト遺伝子の解析は一切行っていない。

C. 研究結果

76例のB型肝炎genotypeC2の解析では病期の進行とともに遺伝子変異は増加し、特にprecore/core領域、X領域、preS2領域に顕著であった。肝発癌24例を非発癌20例と比較検討したところ、発癌例に遺伝子変異の頻度が高く、特にpreS2欠失、Xプロモーター領域の変異が発癌の予測因子になると考えられた。また、49例のラミブジン治療例における治療効

果とウイルス遺伝子変異との検討では、投与24週以内にHBV-DNA<2.6 logcopies/mlになる症例はG1896A, A1287G/Cの変異、および逆転写酵素領域の変異数が有意に多く認められた。C型肝炎PEG-IFN、リバビリン併用治療例では、10例のウイルス遺伝子全塩基配列と69例におけるコア領域の変異を検討し、コア70、91番目の変異は併用治療抵抗性と関連する可能性が示唆された。

D. 考察

B型肝炎では、多数例で全塩基配列を決定し解析することにより、遺伝子変異と病態、治療効果との関連を詳細に検討することができた。C型肝炎に関しても、今後症例を増やして病態、治療効果と関連するウイルス側因子を検討する予定である。

E. 結論

B型慢性肝炎のウイルス遺伝子変異、欠失は各種病態、発癌と密接に関係していた。C型肝炎の併用治療抵抗

性にコア遺伝子変異が関与していると考えられた。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Zhang KY, et al. Analysis of the complete hepatitis B virus genome in patients with genotype C chronic hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci.* 2007; 98:1921-1929.

2) Fukai K, et al. Association between lamivudine sensitivity and the number of substitutions in the reverse transcriptase region of the hepatitis B virus polymerase. *J Viral Hepat.* 2007; 14: 661-666.

3) Zhang K, et al. Analysis of the complete hepatitis B virus genome in patients with genotype C chronic

hepatitis in relation to HBeAg and anti-HBe. *J Med Virol.* 2007; 79: 683-693.

2. 学会発表

1) 深井健一ら。B型肝炎ウイルス全塩基配列の解析によるラミブジン感受性に関与するウイルス側因子の検討。肝臓 46 巻、A26、2005 年。

2) 張凱宇ら。各種病態における HBV キャリアーの血清中 HBV 全塩基配列の解析。肝臓 46 巻、A190、2005 年。

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得 特に無し

2. 実用新案登録 特に無し

3. その他 特に無し

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
坂本 穰, 榎本信幸	C型肝炎治療のコンセンサス Peg-IFN/ribavirin併用療法 ISDRと初期抗ウイルス効果からみた治療効果	岡上 武 小 侯政男 林 紀夫 熊田博 光	コンセンサス肝 疾患 B型肝炎 ・C型肝炎の治 療	日本メデ ィカルセ ンター	東京	2007	96-101
坂本 穰, 榎本信幸	C型慢性肝炎	菅野健太郎 上西紀夫 井廻道夫	消化器疾患最新 の治療 2007-2008	南江堂	東京	2007	287-291
泉並木	肝庇護療法	泉並木	肝臓病診療ゴール デンハンドブ ック	南江堂	東京	2007	209-213
今村道雄, 茶山一彰	キメラマウスを用いた研究	小侯政男	内科	南光堂	東京	2007	706-9
今村道雄, 茶山一彰	B型肝炎の動物モデル	林 紀夫	Annual Review 消化器	中外医学 社	東京	2007	87-91
今村道雄, 平賀伸彦、 茶山一彰	HCV感染キメラマウスモデル細胞	和気健二郎	細胞	ニューサイ エンス	東京	2007	9-12
Nakamoto Y and Kaneko S	Enhanced antitumor effects of suicide gene therapy combined with adenovirally delivered monocyte chemoattractant protein-1.	Jim Xiang	Recent Development in Gene Therapy.	Transwo rld Researc h Network	India	2007	265-281
Aizaki H, Suzuki T.	RNA Replication of Hepatitis C Virus	Cheng RH, Miyamura T.	Structure-base d Study of Viral Replication	World Scientifi c	Singap ore	2008	151-172
荒瀬康司 鈴木文孝 熊田博光	抗ウイルス療法の安全性と治療効果	岡上武 小侯政男 林紀夫 熊田博光	コンセンサス肝 疾患2007	日本メデ ィカルセ ンター	東京都	2007	110~ 115
鈴木文孝	B型肝炎ウイルスの遺伝子変異と病態	熊田博光	B型慢性肝炎の マネジメント(改 訂版)	医薬ジャ ーナル社	大阪府	2007	18-29

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
坂本 穰, 井上泰輔, 榎本信幸	ウイルス肝炎の臨床・治療 実地診療におけるC型肝炎の 治療の実際 インターフェ ロン単独療法をどう使う か?—ベグから自己注射ま での実際—	Medical Practice	24(4)	713-716	2007
吉田貴史, 坂本 穰, 榎本信幸	リバビリン併用インターフ ェロン治療抵抗例の病態と その対策 治療効果を規定 するウイルス側の要因	Modern Physician	28(1)	35-36	2007
坂本 穰, 榎本信幸	特集 ウイルス性慢性肝炎 : 診断と治療の進歩 IV. C 型慢性肝炎の抗ウイルス療 法 1. インターフェロン療 法の現況: 標準治療のエビデ ンス	日本内科学会雑誌	97(1)	57-63	2008
坂本 穰, 榎本信幸	ウイルス性肝炎のプライマ リケア 総論 慢性ウイル ス性肝炎の診断と節目検診	診断と治療	96(3)		2008
Amemiya F, Maekawa S, Itakura Y, Kanayama A, Matsui A, Takano S, Yamaguchi T, Itakura J, Kitamura T, Inoue T, Sakamoto M, Yamauchi K, Okada S, Yamashita A, Sakamoto N, Itoh M, Enomoto N	Targeting lipid metabolism in the treatment of hepatitis C virus infection	J Infect Dis.	197(3)	361-70	2008
Morimoto M, Tanabe F, Kasai H, Ito M.	Effect of a thiol proteinase inhibitor, E-64-d, on susceptibility to infection with Staphylococcus aureus in Chediak-Higashi syndrome (beige) mice.	Int Immuno- pharmacol.	7	973-980	2007

Amemiya F, Maekawa S, Itakura Y, Kanayama A, Matsui A, Takano S, Yamaguchi T, Itakura J, Kitamura T, Inoue T, Sakamoto M, Yamauchi K, Okada S, Yamashita A, Sakamoto N, Ito M, Enomoto N.	Targeting lipid metabolism in the treatment of hepatitis C virus infection.	J Infect Dis.	197	361-370	2008
Okuyama T, Kurata S, Tomimori Y, Fukunishi N, Sato S, Osada M, Tsukinoki K, Jin HF, Yamashita A, Ito M, Kobayashi S, Hata RI,	p63(TP63) elicits strong trans-activation of the MFG-E8/lactadherin/BA46 gene through interactions between the TA and DeltaN isoforms.	Oncogene	27	308-317	2008
Ikawa Y, Katoh I.					
Yang PT, Xiao WG, Zhao LJ, Lu J, He LM, Kasai H, Ito M.	Increase in the level of macrophage colony-stimulating factor in patients with systemic lupus erythematosus.	Ann Rheum Dis.	67	429-430	2008
Asahina Y, Izumi N, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, Doi F, Tsuchiya K, Nakanishi H, Matsunaga K, Kitamura T, Kurosaki M, Uchihara M, Higaki M, Miyake S.	Pharmacokinetics and enhanced PKR response in patients with chronic hepatitis C treated with pegylated interferon alpha-2b and ribavirin.	J Viral Hepat	14	396-403	2007
Kurosaki M , Matsunaga K, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Komatsu N, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Asahina Y, Miyake S, Enomoto N, Izumi N.	The presence of steatosis and elevation of alanine aminotransferase level are associated with fibrosis progression in chronic hepatitis C with non-response to interferon therapy.	J Hepatol	In press	In press	2008

Asahina Y, Izumi N, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Yasui Y, Komatsu N, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, Tuschiya K, Nakanishi H, Itakura J, Kurosaki M, Enomoto N, Tasaka M, Sakamoto N, Miyake S.	Potential relevance of cytoplasmic viral sensors and related regulations involving innate immunity in antiviral response.	Gastroenterology	In press	In press	2008
	External validation of	Hepatology	47	352-353	2007
kurosaki M, Izumi N.	Fib-4: Diagnostic accuracy is limited in elderly populations				
Yatsuji H, Hiraga N, Mori N, Hatakeyama T, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Suzuki F, Kumada H, Chayama K.	Successful treatment of an entecavir-resistant hepatitis B virus variant.	J Med Virol	79	1811-7	2007
Chen H, Takahashi S, Imamura M, Okutani E, Zhang ZG, Chayama K, Chen BA.	Earthworm fibrinolytic enzyme: anti-tumor activity on human hepatoma cells in vitro and in vivo.	Chin Med J.	120	898-904	2007
Matsumoto A, Tanaka E, Minami M, Okanoue T, Yatsuhashi H, Nagaoka S, Suzuki F, Kobayashi M, Chayama K, Imamura M, Yotsuyanagi H, Nakaoka S, Maki M, Kawata S, Kumada H, Iino S, Kiyosawa K.	Low serum level of hepatitis B core-related antigen indicates unlikely reactivation of hepatitis after cessation of lamivudine therapy.	Hepatol Res.	37	661-6	2007
Hiraga N, Imamura M, Tsuge M, Noguchi C, Takahashi S, Iwao E, Fujimoto Y, Abe H, Maekawa T, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Sakai A, Sakai Y, Honda M, Kaneko S, Wakita T, Chayama K.	Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis C virus and its susceptibility to interferon.	FEBS Lett.	581	1983-7	2007

Hatakeyama T, Noguchi C, Hiraga N, Mori N, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Kawakami Y, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Kawakami H, Yatsuji H, Aisaka Y, Kohno H, Aimitsu S, Chayama K.	Serum HBV RNA is a predictor of early emergence of the YMDD mutant in patients treated with lamivudine.	Hepatology	45	1179-86	2007
Noguchi C, Hiraga N, Mori N, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Yatsuji H, Shirakawa K, Takaori-Kondo A, Chayama K.	Dual effect of APOBEC3G on Hepatitis B virus.	J Gen Virol	88	432-40	2007
Nakamoto Y, Mizukoshi E, Tsuji H, Sakai Y, Kitahara M, Arai K, Yamashita T, Yokoyama K, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O and Kaneko S.	Combined Therapy of Transcatheter Hepatic Arterial Embolization with Intratumoral Dendritic Cell Infusion for Hepatocellular Carcinoma; Clinical Safety.	Clin. Exp. Immunol.	147(2)	296-305	2007
Tsuchiyama T, Nakamoto Y, Sakai Y, Marukawa Y, Kitahara M, Mukaida N and Kaneko S.	Prolonged, NK cell-mediated antitumor effects of suicide gene therapy combined with monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma.	J. Immunol.	178(1)	574-83	2007
Kaji K, Nakamoto Y and Kaneko S.	Analysis of hepatitis C virus-specific CD8+ T-cells with HLA-A*24 tetramers during phlebotomy and interferon therapy for chronic hepatitis C.	Oncol. Rep.	18(4)	993-8	2007
Oishi N, Shilagardi K, Nakamoto Y, Honda M, Kaneko S and Murakami S.	Hepatitis B virus X protein overcomes oncogenic RAS-induced senescence in human immortalized cells.	Cancer Sci.	98(10)	1540-8	2007
Komura T, Mizukoshi E, Kita Y, Sakurai M, Takata Y, Arai K, Yamashita T, Ohta T, Shimizu K, Nakamoto Y, Honda M, Takamura T and Kaneko S.	Impact of diabetes on recurrence of hepatocellular carcinoma after surgical treatment in patients with viral hepatitis.	Am. J. Gastroenterol.	102(9)	1939-46	2007

Tachibana Y, Nakamoto Y, Mukaida N and Kaneko S.	Intrahepatic interleukin-8 production during disease progression of chronic hepatitis C.	Cancer Lett.	251(1)	36-42	2007
Kita Y, Mizukoshi E, Takamura T, Sakurai M, Takata Y, Arai K, Yamashita T, Nakamoto Y and Kaneko S.	Impact of diabetes mellitus on prognosis of patients infected with hepatitis C virus.	Metabolism	56(12)	1682-8	2007
El-Shamy A, Sasayama M, Nagano-Fujii M, Sasase N, Imoto S, Kim SR, Hotta H.	Prediction of efficient virological response to pegylated interferon/ribavirin combination therapy by NS5A sequences of Hepatitis C virus and anti-NS5A antibodies in pre-treatment sera.	Microbiol Immunol	51	471-482	2007
Inubushi S, Nagano-Fujii M, Kitayama K, Tanaka M, An C, Yokozaki H, Yamamura H, Nuriya H, Kohara M, Sada K, Hotta H.	Hepatitis C virus NS5A protein interacts with and negatively regulates the non-receptor protein-tyrosine kinase Syk.	J Gen Virol (in press)			2008
Okamoto T, Omori H, Kaname Y, Abe T, Nishimura Y, Suzuki T, Miyamura T, Yoshimori T, Moriishi K, Matsuura Y.	A Single Amino Acid Mutation in Hepatitis C Virus NS5A Disrupting FKBP8 Interaction Impairs Viral Replication.	J. Virol.		in press	2008
Taguwa S, Okamoto T, Abe T, Mori Y, Suzuki T, Moriishi K, Matsuura Y.	Human Butyrate-Induced Transcript I Interacts with Hepatitis C Virus NS5A and Regulates Viral Replication.	J. Virol.		in press	2008
Murakami K, Inoue Y, Hmwe SS, Omata K, Hongo T, Ishii K, Yoshizaki S, Aizaki H, Matsuura T, Shoji I, Miyamura T, Suzuki T.	Dynamic behavior of hepatitis C virus quasispecies in a long-term culture of the three-dimensional radial-flow bioreactor system.	J Virol Methods.		in press	2008
Suzuki T, Ishii K, Aizaki H, Wakita T.	Hepatitis C viral life cycle.	Adv Drug Deliv Rev.	59	1200-1212	2007
Suzuki T, Aizaki H, Murakami K, Shoji I, Wakita T.	Molecular biology of hepatitis C virus.	J. Gastroenterol.	42	411-23	2007

Shirakura M, Murakami K, Ichimura T, Suzuki R, Shimoji T, Fukuda K, Abe K, Sato S, Fukasawa M, Yamakawa Y, Nishijima M, Moriishi K, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T, Howley PM, Miyamura T, Shoji I.	E6AP ubiquitin ligase mediates ubiquitylation and degradation of hepatitis C virus core protein.	J. Virol.	81	1174-1185	2007
Miyamoto H, Moriishi K, Moriya K, Murata S, Tanaka K, Suzuki T, Miyamura T, Koike K, Matsuura Y.	Involvement of the PA28gamma-dependent pathway in insulin resistance induced by hepatitis C virus core protein.	J. Virol.	81	1727-1735	2007
Moriishi K, Mochizuki R, Moriya K, Miyamoto H, Mori Y, Abe T, Murata S, Tanaka K, Miyamura T, Suzuki T, Koike K, Matsuura Y.	Critical role of PA28gamma in hepatitis C virus-associated steatogenesis and hepatocarcinogenesis.	Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.	104	1661-1666	2007
Ishii K, Iijima S, Kimura N, Lee YJ, Ageyama N, Yagi S, Yamaguchi K, Maki N, Mori K, Yoshizaki S, Machida S, Suzuki T, Iwata N, Sata T, Terao K, Miyamura T, Akari H.	GBV-B as a pleiotropic virus: distribution of GBV-B in extrahepatic tissues in vivo.	Microbes Infect.	9	515-521	2007
Mizutani T, Endoh D, Shirato K, Shimizu H, Fukushi S, Saijo M, Sakai K, Kwang L, Ito M, Nerome R, Takasaki T, Ishii K, Suzuki T, Kurane I, Morikawa S, Nishimura H.	Rapid genome sequencing of RNA viruses.	Emerg. Infect. Dis.	13	322-324	007
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.	81	8030-8040	2007
Inoue Y, Murakami K, Hmwe SS, Aizaki H, Suzuki T.	Transcriptomic comparison of human hepatoma Huh-7 cell clones with different hepatitis C virus replication efficiencies.	Jpn. J. Infect. Dis.	60	173-178	2007

Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H.	Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region are the important predictor of hepatocarcinogenesis.	Hepatology	46	1357-64	2007
Arase Y, Ikeda K, Suzuki F, Suzuki Y, Saitou S, Kobayashi M, Akuta N, Someya T, Koyama R, Hosaka T, Sezaki H, Kobayashi M, Kumada H.	Long-Term outcome after interferon therapy in elderly patients with chronic hepatitis C.	Intervirolgy	50	16-23	2007
Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H.	Predictive factors of early and sustained responses to peginterferon plus ribavirin combination therapy in Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1b: amino acid substitutions in the core region and low-density lipoprotein cholesterol levels.	J Hepatol	46	403-10	2007
Arase Y, Suzuki F, Suzuki Y, Saitoh S, Kobayashi M, Akuta N, Someya T, Sezaki H, Sato J, Kobayashi M, Ikeda K, Kumada H.	Long-Term presence of HBV in the sera of chronic hepatitis b patients with HBsAg Seroclearance.	Intervirolgy	50	161-65	2007
Hosaka T, Suzuki F, Suzuki Y, Saitoh S, Kobayashi M, Someya T, Sezaki H, Akuta N, Arase Y, Ikeda K, Kumada H.	Factors associated with the virological response of Lamivudineresistnt hepatitis B virus during combination therapy with adefovir dipivoxil plus lamivudine.	J Gastroenterol	42	368-74	2007
Kawaoka T, Suzuki F, Akuta N, Suzuki Y, Arase Y, Sezaki H, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Ikeda K, Kumada H.	Efficacy of lamivudine therapy in elderly patients with chronic hepatitis B infection.	J Gastroenterol	42	395-401	2007
Suzuki F, Akuta N, Suzuki Y, Yatsuji H, Sezaki H, Arase Y, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Ikeda K, Kobayashi M, Watahiki S, Kumada H.	Selection of a virus strain resistant to entecavir in a nucleoside-narve patient with hepatitis B of genotype H.	J Clin Virol	39	149-52	2007

Arase Y, Ikeda K, Suzuki F, Suzuki Y, Saitoh S, Kobayashi M, Akuta N, Hosaka T, Sezaki H, Yatsuji H, Kawamura Y, Kobayashi M, Kumada H.	Prolonged-Interferon therapy reduce hepatocarcinogenesis in aged-patients with chronic hepatitis C.	J Med Virol	79	1095-1102	2007
Matsumoto A, Suzuki F, Kobayashi M, Kumada H.	Low serum level of hepatitis B core-related antigen indicates unlikely reactivation of hepatitis after cessation of lamivudine therapy.	Hepatology Res	37	661-66	2007
Suzuki F, Kumada H.	Interferon and lamivudine monotherapy on chronic hepatitis B in Japan.	Hepatology Res	37	S42-S46	2007
Sezaki H, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Kumada H.	Evaluation of long-term biochemical responses to combination therapy of interferon plus ribavirin in those infected with hepatitis C virus genotype 1b and high baseline viral load.	Hepatology Res	37	787-92	2007
Hasegawa E, Kobayashi M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Kumada H.	Efficacy and anticarcinogenic activity of interferon for hepatitis C virus-related compensated cirrhosis in patients with genotype 1b low viral load or genotype 2.	Hepatology Res	37	793-800	2007
Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N, Hosaka T, Sezaki H, Yatsuji H, Kobayashi M, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Watahiki S, Iwasaki S, Miyakawa Y, Kumada H.	Loss of hepatitis B surface antigen from the serum of patients with chronic hepatitis treated with lamivudine.	J Med Virol	79	1472-77	2007
Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H.	Predictors of viral kinetics to peginterferon plus ribavirin combination therapy in Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1b.	J Med Virol	79	1686-95	2007
Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H.	Prediction of response to pegylated interferon and ribavirin in hepatitis C by polymorphisms in the viral core protein and very early dynamics of viremia.	Intervirology	50	361-68	2007

Yatsuji H, Hiraga N, Mori N, Hatakeyama T, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Suzuki F, Kumada H, Chayama K.	Successful treatment of an Entecavir-resistant hepatitis B virus variant.	J Med Virol	79	1811-17	2007
Chihara E, Arase Y, Ikeda K, Suzuki F, Suzuki Y, Saitoh S, Kobayashi M, Akuta N, Hosaka T, Sezaki H, Yatsuji H, Kawamura Y, Kobayashi M, Kumada H.	Prologed Hepatitis after acute infection with genotype H hepatitis B virus.	Int Med	46	1847-51	2007
Kawamura Y, Ikeda K, Suzuki F, Suzuki Y, Saitoh S, Kobayashi M, Akuta N, Hosaka T, Sezaki H, Yatsuji H, Kawamura Y, Arase Y, Kumada H.	Viral elimination reduces incidence of malignant lymphoma in patients with hepatitis C.	Am J Med	120	1034-41	2007
Tasaka M, Sakamoto N, Wakita T, Enomoto N, et al.	HCV nonstructural proteins responsible for suppression of RIG-I/Cardif-induced interferon response.	Journal of General Virology	88	3323-3333	2007
Sekine-Osajima Y, Sakamoto N, Wakita T, Enomoto N, et al.	Development of plaque assays for hepatitis C virus and isolation of mutants with enhanced cytopathogenicity and replication capacity.	Virology	371	71-85	2008
Amemiya F, Sakamoto N, Enomoto N, et al.	Targeting lipid metabolism in the treatment of hepatitis C.	Journal of Infectious Disease	in press		2008
田坂めぐみ、坂本直哉	C型肝炎ウイルス感染におけるインターフェロン応答抑制機構	分子消化器病	4 (2)	124-129	2007
中川美奈、坂本直哉	C型肝炎ウイルスの構造と病態	治療学	in press		2007
坂本直哉	C型慢性肝炎の進展と治療抵抗性:ウイルス変異の観点から.	日本内科学会雑誌	97 (1)	64-68	2007
Sermasathanasawadi R, Kato N, et al.	Association of IRF-7 gene polymorphism with liver cirrhosis in chronic hepatitis C patients.	Liver Int			2008 in press
加藤直也, 他.	B型慢性肝炎の抗ウイルス療法 抗ウイルス薬の将来	日本内科学会雑誌	97巻1号	50-56	2008

Abe K, Kato N, et al (加藤)	Cell culture-adaptive NS3 mutations required for the robust replication of genome-length hepatitis C virus RNA.	Virus Research	125	88-97	2007
Abe K, Kato N, et al (阿部)	Serum-free cell culture system supplemented with lipid-rich albumin for hepatitis C virus (strain O of genotype 1b) replication.	Virus Research	125	162-168	2007
Ariumi Y, Kato N, et al (加藤)	DDX3 DEAD box RNA helicase is required for hepatitis C virus (HCV) RNA replication.	Journal of Virology	81	13922-13926	2007
Yano M, (加藤)	Comprehensive Analysis of the Effects of Ordinary Nutrients on Hepatitis C Virus RNA Replication in Cell Culture.	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	51	2016-2027	2007
Dansako H, Kato N, et al (加藤)	Limited suppression of the interferon-beta production by hepatitis C virus serine protease in cultured human hepatocytes.	FEBS Journal	274	4161-4176	2007
Ikeda M, Kato N, et al (加藤)	Modulation of host metabolism as a target of new antivirals.	Advanced Drug Delivery Reviews	59	1277-1289	2007
Ikeda M, Kato N, et al (加藤)	Life style-related diseases of the digestive system: cell culture system for the screening of anti-HCV reagents: suppression of HCV replication by statins and synergistic action with interferon.	Journal of Pharmacological Sciences	105	145-150	2007
Zhang KY, et al.	Analysis of the complete hepatitis B virus genome in patients with genotype C chronic hepatitis and hepatocellular carcinoma.	Cancer Sci.	98卷、12月号	1921-1929	2007年
Fukai K, et al.	Association between lamivudine sensitivity and the number of substitutions in the reverse transcriptase region of the hepatitis B virus polymerase.	J Viral Hepat.	14卷、9月号	661-666	2007年
Zhang K, et al.	Analysis of the complete hepatitis B virus genome in patients with genotype C chronic hepatitis in relation to HBeAg and anti-HBe.	J Med Virol	79卷、6月号	683-693	2007年

IV. 研究成果の刊行物・別刷