

B型肝炎ウイルスレセプタークローニングによる *in vitro* 及び *in vivo* 感染系の樹立
と病態発症機構の解明

分担研究者 上田啓次 浜松医科大学医学部感染症学 教授

研究要旨

従来より所持している HBV クローンや樹立した HBV 膜蛋白遺伝子変異体を利用して HBV 付着因子である preS1 の大量発現と精製産物を用いた pseudotype HBV の作製から HBV レセプターの分離・同定を試み、さらにそれを利用した感染系の構築を構築し病態発症機構の解析や治療法開発へ応用する。

A. 研究目的

B型肝炎ウイルス（HBV）はその発見から 40 年余経ったが未だにその有効な感染系は存在せず、HBV レセプターはおろか HBV 感染病態発症（急性肝炎、慢性肝炎、肝がん）機構の詳細は不明のままである。HBV 感染に対してはワクチンが開発され大部分の新規の感染は防ぐことが可能になっているが、本ワクチンを回避する HBV サブタイプの報告もあり決して完璧なワクチンではない。また日本においても 20 歳以上では未だ多くの HBV キャリアーや慢性肝炎を発症している患者さんたちが多く存在し、世界では約 2-3 億人の患者が存在する世界的にも有数の巨大感染症である。B 型慢性肝炎に対しては核酸アナログを中心とした治療がされているが、相次ぐ変異体の出現により治療そのものも極めて困難をきたしている難治性の感染症である。このようなウイルス感染症を克服し新たな

治療戦略を考案するには HBV の *in vitro*（培養細胞感染系という意味で）、*in vivo*（動物感染モデル）を樹立し、病態発症機構を詳細に解明することが不可欠であり、そのためには HBV の感染に際して機能するレセプターの分離・同定が欠かせないと考えられる。そこで本研究では最も重要な HBV レセプターの分離・同定を目指すものである。

B. 研究方法

HBV レセプターの分離・同定に成功しマウスを用いた *in vivo* 感染系の構築の際には動物実験に関する法令或は本学学内規定に基づいて実験を進行するものとする。

（倫理面への配慮）

HBV レセプターの分離・同定に成功しマウスを用いた *in vivo* 感染系の構築の際には動物実験に関する法令或は本学学内規定に基づいて実験を進行するものとする。

る。またヒト検体を使用する事態に当たっては本学倫理規定に従い許可を受けた上で進めるものとする。

C. 研究結果

1) B型肝炎ウイルス (HBV) のウイルス側付着因子と考えられるPreS1領域を含むGST-PreS1-His6を大腸菌で発現し、GST-グルタチオン及びHis6-Ni-NTAの親和性を利用してダブル精製を行った。収量として約300 μ g (1mg/ml)を得た。

2) この精製蛋白をプローブとしてヒト胎盤cDNAの ϕ 発現ライブラリーをスクリーニングした。

3) 現在までに9個の相互作用因子を釣り上げ塩基配列解析を行った。釣り上げたクローンには膜蛋白やある物質のトランスポーターなどウイルスレセプターとして可能性の高いものが含まれていた。

4) 一方でHBVレセプタークローニングのためのツールとしてpseudotype HBVの構築及びアプローチを試みた。レトロウイルスゲノムとしてgfpをもつベクターを構築し、これを発現するパッケージング細胞 (gp/gfp/HuH7及びgfp/GP2) を得た。

5) HBV 膜蛋白を発現するベクターを構築し gp/gfp/HuH7 及び gfp/GP2 を用いて pseudotype HBV の形成を確認中である。

D. 考察

これまで得たクローンの中にHBVレセプターが存在するかどうかの確認作業を行

うとともにpseudotype HBVを完成させスクリーニングを進める必要がある。

E. 結論

これまでの結果、進行状況を踏まえ今後更にHBVレセプターの分離・同定を進行させる。

G. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

今のところ無し (論文・学会発表は下記特許申請を踏まえ慎重に対処したい)

H. 知的財産権の出願・登録状況

今のところ無し

B型及びC型肝炎ウイルスの感染による肝がん発症の病態解明と

その予防・治療法の開発に関する研究

＜ウイルス性肝炎・肝がんにおける免疫の制御に関する研究＞

分担研究者 中本 安成 金沢大学医学部附属病院消化器内科学 講師

研究要旨

肝細胞がん（肝がん）組織において特異的な発現を示す遺伝子がコードするタンパクの免疫原性を評価するとともに、腫瘍免疫療法の標的となる分子を同定する。

A. 研究目的

細胞障害性T細胞(CTL)によって認識される肝がん抗原AFPに由来するHLA-A24拘束性エピトープの同定を試み、その臨床的有用性について検討した。

れ、IFN- γ 産生CTLの誘導が可能であった。ペプチドで誘導したAFP特異的CTLはHLA-A24を発現するAFP産生肝癌培養細胞に対して高い障害活性を示した。

B. 研究方法

肝がん患者から末梢血リンパ球(PBMC)を分離し、AFPペプチドにて刺激した際のIFN- γ 産生をELISPOTアッセイを用いて検討した。さらに、同定したAFPエピトープを用いて肝がん患者における免疫応答を検討した。
(倫理面への配慮)

D. 考察

AFP特異的CTLの誘導はC型肝炎ウイルスの感染の有無、血中AFPレベルに関係なく可能であった。またAFP特異的CTLのfrequencyは進行した肝細胞癌患者において、より高い傾向を認めた。

E. 結論

本研究において同定したAFP由来HLA-A24拘束性CTLエピトープは、肝癌患者におけるAFPを標的とした免疫療法の開発に有用と考えられた。

C. 研究結果

10個のAFP由来ペプチドのうち5個において、HLA-A24分子への高い結合親和性を認めた。これらのペプチドは肝がん患者のPBMCによって認識さ

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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. 2007, 147(2), 296-305.
2. 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. 2007, 178(1), 574-83
 3. 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. 2007, 18(4), 993-8.
 4. 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. 2007, 98(10), 1540-8.
 5. 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. 2007, 102(9), 1939-46.
 6. Tachibana Y, Nakamoto Y, Mukaida N and Kaneko S. intrahepatic interleukin-8 production during disease progression of chronic hepatitis C. Cancer Lett. 2007, 251(1) 36-42.
 7. 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 2007, 56(12), 1682-8.
- Kitahara M, Arai K, Yamashita T, Yokoyama K, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O and Kaneko S: O-367; Transcatheter arterial embolization with dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma.; 第17回Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) Conference (Kyoto); Hepatology International 1(1) 65; 一般(parallel); oral: Mar. 30, 2007
2. Nakamoto Y, Mizukoshi E, Kitahara M, Sakai Y, Kakinoki K, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O and Kaneko S: #23; Clinical safety and bioactivity of OK432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma following transcatheter hepatic arterial embolization.; 第58回American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) Annual Meeting (Boston, Massachusetts): Hepatology 46 (4, Suppl.) 243A; 一般(parallel); oral: Nov. 4, 2007

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し

2. 学会発表

1. Nakamoto Y, Mizukoshi E, Tsuji H, Sakai Y,

厚生労働省科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

プロテオミクスによる肝炎進展と治療効果を予測するバイオマーカー探索

分担研究者 坪内博仁

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科健康科学専攻人間環境学講座
消化器疾患・生活習慣病学 教授

研究要旨:プロテオミクスを用いて、肝炎進展に伴い発現変動する蛋白を網羅的に比較検討した。クリンプロットシステムおよびMALDI TOF/MSシステムを用いて分子量約3000以下の領域をC型肝炎ウイルス(HCV)感染者の血清を用いて比較したところ、血清中の蛋白質発現パターンが肝機能持続正常者と慢性肝炎で異なっており、有意差のある蛋白質ピークを10個以上検出した。また、そのうちC型慢性肝炎に比べてHCV感染ALT持続正常者で高かった一つの蛋白ピークはC4a fragmentであることを明らかにした。さらに、C4aをELISAで測定すると、その濃度は健常者では低値で、HCV感染に伴い上昇するが、その濃度は肝疾患の進行に伴い低下傾向を示した。以上のことから、血清C4aはHCV感染やHCV関連肝疾患の肝病態進展と関連することが示唆された。また、HCV関連慢性肝疾患患者血清のプロテオーム解析は肝疾患の病態進展のバイオマーカー探索や病態解明に有用であると思われる。

A. 研究目的

本研究では、C型肝炎ウイルス(HCV)関連肝疾患患者の血清を用いてプロテオーム解析を行い、肝疾患の病態進展のバイオマーカーを探索し、病態を解明することが目的である。

B. 研究方法

- 1) HCV 関連肝疾患 39 例 (ALT 持続正常 19 例、慢性肝炎 20 例)、健常者 24 例、非アルコール性脂肪肝炎 20 例の血清を比較検討した。
- 2) クリンプロットシステムおよび MALDI TOF/MS システムを用いて解析した。測定範囲は分子量約 3000 以下の蛋白質・ペプチド領域とした。
- 3) 発現に有意差のあったピーク蛋白は、MS/MS イオンサーチ法で同定した。
- 4) プロテオミクスの対象者を含む HCV 関連肝疾患 32 例 (ALT 持続正常 16 例、慢性肝炎 11 例、肝臓 5 例)、健常者 16 例を対象に、ELISA 法を用いて、同定した C4a の濃度を測定した。
- 5) ALT 持続正常 4 例、慢性肝炎 6 例、肝硬変 6 例、HCV 感染既往者 (HCV 抗体陽性で HCV RNA 陰性者) 7 例の保存血清 23 サンプルを使用し、ALT の推移と C4a 蛋白濃度を比較検討した。

倫理面の配慮

- a. 個人の権利の擁護: 1) 研究内容について十分な説明を行い、研究への参加は任意であること、研究

に参加しない場合でも、従来通り診療を受けることができることを示す。2) 参加者のデータは、厳重な秘密保持のもとに管理され、本研究のデータが参加者に不利益を及ぼすことはないと考えられる。

- b. 個人情報の管理: 1) ID 番号、氏名、住所、電話番号などの個人を特定できる情報を除いたものを作製し、新たな番号を付与し、本研究にはこの番号のみを用い、個人が特定できる名前などを用いない。2) 対象者由来の血液サンプルは個人が同定できる情報を消去して、番号を付与する。
- c. 対象者に理解を求め同意を得る方法: 担当医より、研究内容について説明を行ない、書面による同意を得る。
- d. 研究等によって生じる個人への不利益: 超音波検査や静脈穿刺は侵襲性はほとんどなく、被験者に不当な危険が生じることはない。個人のプライバシーに関わる点については上記のように十分な配慮を行い、対象者の不利益が生じないようにする。

C. 研究結果

- 1) HCV 感染 ALT 持続正常者 (PNALT) と C 型慢性肝炎 (CH) を比較したところ、血清中の蛋白質発現パターンが異なっており、有意差のある蛋白質ピークを少なくとも 10 個検出した。
- 2) CH よりも PNALT で血清中の発現ピーク値が有意に高値であった分子量約 1749m/z のピーク蛋白を Complement component 4a (C4a) fragment と同定し

た。

3) ELISA で測定した C4a fragment 濃度は健常者で最も低く、HCV 感染者、特に PNALT で高値を示し、慢性肝炎、肝癌患者では PNALT よりも有意に低値であった(図)。

4) 長期に経過観察している HCV 抗体陽性者の ELISA で測定した C4a fragment 濃度は HCV RNA 陰性者では比較的 low、RNA 陽性 PNALT では明らかに高値であり、慢性肝炎や肝硬変では低下傾向を示した。

D. 考察

本研究では HCV 感染 PNALT と C 型慢性肝炎で発現に差を認めた約 1749m/z の蛋白が C4a fragment であることを明らかにした。このピーク蛋白は、健常者よりも PNALT で発現が亢進していたが、肝炎の活動性がより高い慢性肝炎や肝硬変では低下傾向であることを確認した。また、ELISA で測定した C4a 濃度もプロテオミクスで検出した蛋白ピーク値と同様に、PNALT で最も高値であり、慢性肝炎や肝硬変患者では低値であった。さらに、ALT 持続正常の HCV 感染既往者と比較しても、C4a は PNALT で高値であり、HCV 感染持続により C4a が高値となることを明らかにした。C4 は肝で産生されることから、肝疾患の進行に伴い C4a が低下傾向を示す可能性はあるが、C4a と肝疾患、特に PNALT との関連を明らかにした報告は無い。今後、C4a と HCV 持続感染との関連や、肝疾患進行に伴う C4a の低下については、さらなる解析が必要である。

E. 結論

プロテオーム解析による肝炎ウイルス関連慢性肝疾患患者血清の網羅的タンパク質発現解析は肝疾患の進展予測に有用であるだけでなく、病態進展に関わる分子を同定でき、病態解明につながる可能性があると思われた。

F. 研究発表

・論文発表

1. Matsumoto Y, Motoki T, et al. Inhibition of tumor-stromal interaction through HGF/Met signaling by valproic acid. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;366:110-69.
2. Sakiyama T, Fujita H, Tsubouchi H. Autoantibodies against ubiquitination factor E4A (UBE4A) are associated with severity of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2007 (In press).
3. Uto H, Kurogi J, et al. Alanine aminotransferase flare-up in hepatitis C virus carriers with persistently normal alanine aminotransferase levels in a hyperendemic area of Japan. *J*

Gastroenterol. 2007; 42: 673-680.

4. Kanmura S, Uto H, et al. Early diagnostic potential for hepatocellular carcinoma using the SELDI ProteinChip system. *Hepatology.* 2007; 45: 948-956.
5. Abe H, Uto H, et al. Transgenic expression of osteoactivin in the liver attenuates hepatic fibrosis in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007; 356: 610-615.

・学会発表

1. 重信秀峰、宇都浩文、他: HCV 抗体陽性者のインスリン抵抗性に関連する因子の検討. 第 104 回日本内科学会総会・講演会 (2007 年 4 月)
2. 西田知夏、森由紀子、他: 鹿児島県の血液透析患者における C 型肝炎調査報告. 第 104 回日本内科学会総会・講演会 (2007 年 4 月)
3. 小原一憲、宇都浩文、他: C 型肝炎ウイルス感染者における ENPPI 遺伝子 K121Q-塩基多型の意義. 第 93 回日本消化器病学会総会 (2007 年 4 月)
4. 熊谷公太郎、宇都浩文、他: ALT 持続正常者におけるチオレドキシシン濃度. 第 43 回日本肝臓学会総会 (2007 年 5 月)
5. 重信秀峰、小原一憲、他: HCV 感染透析患者における ALT 値と予後. 第 43 回日本肝臓学会総会 (2007 年 5 月)
6. 安倍弘生、蓮池悟、他: コリン欠乏アミノ酸置換食飼育ラットの肝線維化に対してオステオアクチビン強発現が及ぼす影響の解析. 第 43 回日本肝臓学会総会 (2007 年 5 月)
7. 柴藤俊彦、迫勝巳、他: 肝細胞癌合併非アルコール性脂肪性肝炎および C 型慢性肝炎患者の肝組織における P62 発現の比較検討. 第 43 回日本肝臓学会総会 (2007 年 5 月)
8. 今村也寸志、桶谷真、坪内博仁: 最近の生活習慣と肝機能異常. 第 43 回日本肝臓学会総会 (2007 年 5 月)
9. 楠元寿典、蓮池悟、他: 脂肪肝を合併した C 型慢性肝炎の経過-HCV 高浸淫地区住民 12 年間の経過から-. 第 43 回日本肝臓学会総会 (2007 年 5 月)
10. 長谷川将、重信秀峰、他: 低体重は肝細胞癌の予後を悪くする?-累積生存率からみた BMI と HCC の予後との関連. 第 43 回日本肝臓学会総会 (2007 年 5 月)
11. 王宇清、堀内正久、他: 低蛋白質・高脂肪食および低蛋白質・高フルクトース食によるマウス脂肪肝モデルにおける肝障害感受性の検討. 第 43 回日本肝臓学会総会 (2007 年 5 月)
12. 永田賢治、楠元寿典、他: 難治性 C 型慢性肝炎

- に対する PEG-IFN+リバビリン併用療法の有用性の検討 特に高齢者における治療効果の検討. 第 43 回日本肝臓学会総会(2007 年 5 月)
13. 熊谷公太郎、宇都浩文、他:HCV 高浸淫地区住民検診の経過中に HCV-RNA が自然消失した 4 例. 第 89 回日本消化器病学会九州支部例会(2007 年 6 月)
 14. 今村也寸志、平峯靖也、他:アルコール摂取量と脂肪肝発生の関連について. 第 89 回日本消化器病学会九州支部例会(2007 年 6 月)
 15. 西田知夏、屋万栄、他:鹿児島県血液透析患者における C 型肝炎の現況. 第 52 回日本透析医学会学術集会・総会(2007 年 6 月)
 16. 藤田浩、桶谷真、坪内博仁:消化器疾患入院患者における生活習慣病の現状. 第 49 回日本消化器病学会大会(2007 年 10 月)
 17. 宇都浩文、岡上武、坪内博仁:プロテオミクスを用いた NASH の新しい診断マーカー探索の試み. 第 11 回肝臓学会大会(2007 年 10 月)
 18. 小森園康二、迫勝巳、他:B 型慢性肝炎患者に対する核酸アナログ製剤の効果. 第 90 回日本消化器病学会九州支部例会・第 84 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会(2007 年 11 月)
 19. 熊谷公太郎、宇都浩文、他:HCV 高浸淫地区 HCV 持続感染者の HCV コア抗原変動に関与する因子の検討. 第 90 回日本消化器病学会九州支部例会・第 84 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会(2007 年 11 月)
 20. 長谷川将、熊谷公太郎、他:当科における B 型肝炎を背景とする肝細胞癌の実態と今後の対策. 第 90 回日本消化器病学会九州支部例会・第 84 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会

(2007 年 11 月)

21. 佐々木文郷、宇都浩文、他:肝細胞癌のバイオマーカーとして同定した血清中 Complement Component 3a(C3a)fragment の臨床的意義. 第 37 回日本肝臓学会西部会(2007 年 12 月)
22. 熊谷公太郎、宇都浩文、他:肝細胞癌を発症した 75 歳以上高齢者の臨床的意義. 第 37 回日本肝臓学会西部会(2007 年 12 月)長崎
23. 桶谷真、桶谷薫、他:人間ドック受診者における性別からみた脂肪肝の背景. 第 37 回日本肝臓学会西部会(2007 年 12 月)
24. Wang Y, Oketani M, et al : Differential acetaminophen-induced hepatotoxicity between two types of dietary steatosis of the liver in mice. The 58th Annual Meeting of the American Association for the Study of the Live Disease(AASLD)(2007.9)
25. Kodama M, Uto H, et al : Double balloon endoscopic characterization in the small bowel of patients with portal hypertensive enteropathy. The 58th Annual Meeting of the American Association for the Study of the Live Disease(AASLD)(2007.9)
26. Uto H, Sato Y, et al :Proteomic analysis of serum biomarkers in patients with nonalcoholic steatohepatitis using SEDI-TOF/MS or MALDI-TOF/MS. The 58th Annual Meeting of the American Association for the Study of the Live Disease(AASLD) (2007.9)

G.知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

C4a (μ g/ml) ELISA

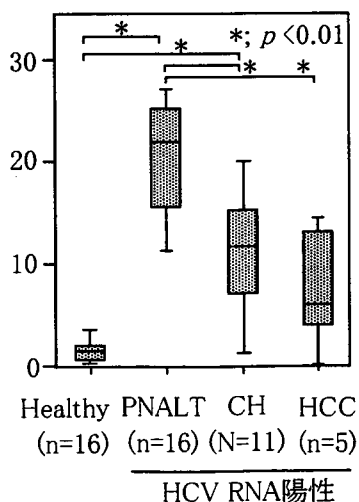


図. HCV感染者のELISAで測定したC4a濃度

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

樹状細胞とインターフェロン- α による消化器癌治療の検討
分担研究者 井廻 道夫 昭和大学医学部第二内科 教授

研究要旨

末期消化器癌に対しては、副作用が少なくかつ効果的な新規治療の開発が急務である。その一つの候補として免疫療法が期待されているが、今回我々は、強力な免疫賦活作用を誘導するような治療の試みとして、樹状細胞と IFN- α , CpG による免疫治療を検討した。マウス消化器癌細胞株と樹状細胞、CpG を混合培養したところ、フェノタイプ、サイトカイン産生能とアロリンパ球刺激能において樹状細胞の成熟が確認された。また、消化器癌細胞株を皮下接種しあらかじめ皮下腫瘍を形成したマウスに対し、樹状細胞と IFN- α 遺伝子導入癌細胞、CpG を用いて治療を行ったところ、形成された皮下腫瘍は樹状細胞のみにより治療した群と比較し、有意に増大が抑制された。今回の結果は樹状細胞と IFN- α , CpG による肝癌治療の有効性を示唆する結果であり、今後臨床への応用が期待された。

A. 研究目的

消化器癌に対して局所療法や集学的治療が発展したがまだ治療困難な症例も多く、副作用が少なくかつ効果的な新規治療の開発が急務である。そこで、免疫療法が期待されているが、消化器癌は一般的に低免疫原性であり、さらに進行癌患者では免疫機能も低下していることが予想されるため、免疫治療は比較的効果が乏しいことが考えられる。今回我々は、強力な免疫賦活作用を誘導するような治療の試みとして、樹状細胞と IFN- α 、CpG による免疫治療を検討した。

遺伝子を導入した MC38 細胞 (MC38-IFN α)、CpG とを混合培養し、樹状細胞のフェノタイプ、サイトカイン産生 (IL-12, IL-1 β , TNF- α) やアロリンパ球刺激能を測定した。In vivo の予防モデルとして、樹状細胞と MC38-IFN α を投与したマウスに対し MC38、あるいは BNL 1MEA.7R.1 を接種し、腫瘍の形成を観察した。また、治療モデルとして、消化器癌細胞株を皮下接種しあらかじめ皮下腫瘍を形成したマウスに対し、樹状細胞と MC38-IFN α 、CpG を投与し、皮下腫瘍の大きさを測定した。

B. 研究方法

消化器癌細胞株として、マウス大腸癌細胞株 MC38 とマウス肝癌細胞株 BNL 1MEA.7R.1 を用いた。樹状細胞と、IFN- α

(倫理面への配慮)

昭和大学動物実験委員会に動物実験実施申請書を提出し、倫理規定と照合された結果、実験実施の承認を得た。

C. 研究結果

MC38-IFN α との混合培養では、樹状細胞の MHC 分子や CD86 の発現増強が認められた。また、混合培養した樹状細胞の IL-12, IL-1 β , TNF- α 産生能、アロリンパ球刺激能の増強もみられた。*In vivo* の実験系で、樹状細胞と MC38-IFN α 、CpG による治療は、腫瘍形成予防効果や、既存の腫瘍の発育抑制効果を認めた。

D. 考察

MC38-IFN α 、CpG との混合培養で樹状細胞は形態的、機能的成熟が認められた。さらに、実際の *in vivo* の実験でも、予防や治療において抗腫瘍効果が確認された。成熟した樹状細胞は未成熟なものと比較し、より高い抗腫瘍効果が期待できると考えられた。今後の臨床への応用も期待できる。

E. 結論

樹状細胞と IFN- α 遺伝子導入細胞、CpG の併用療法は、マウス消化器癌に対し抗腫瘍効果が認められ、今後、臨床応用が期待できると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

Intrahepatic status of regulatory T cells in autoimmune liver diseases and chronic viral hepatitis. Sakaki M, Hiroishi K, Baba T, Ito, T, Hirayama Y, Saito K, Tonoike T, Kushima M, Imawari M. Hepatol Res (in press), 2008.

2. 学会発表

1) 広石和正、平出綾子、井廻道夫. C 型肝炎の獲得免疫. 第 43 回日本肝臓学会総会シンポジウム

2) 広石和正、井廻道夫. C 型肝炎と獲得免疫. 第 44 回日本消化器免疫学会総会シンポジウム

3) Eguchi J, Hiroishi K, Hiraide A, Doi H, Ishii S, Okada H, Imawari M. IL-4 transfected tumor cell vaccines activate tumor infiltrating dendritic cells and promote Type-1 immunity. 第 66 回日本癌学会学術総会

4) 広石和正、平出綾子、江口潤一、土肥弘義、井廻道夫. IFN- α 遺伝子導入癌細胞と樹状細胞との融合細胞による抗腫瘍免疫誘導作用の検討. 第 49 回日本消化器病学会大会

5) Sakaki M, Hiroishi K, Baba T, Ito T, Hirayama Y, Kushima M, Imawari M. Intrahepatic status of regulatory T cells in autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis, chronic hepatitis C, and chronic hepatitis B. The Liver Meeting 2007, The 58th Annual Meeting of The American Association for The Study of Liver Diseases

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

厚生労働省科学研究費
肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）
分担研究報告書

肝がんにおける MICA の分泌とその機能的意義

分担研究者： 竹原徹郎 大阪大学大学院医学系研究科・准教授

研究要旨：肝がんでは MICA の高発現がみられる。NK 細胞の NKG2D レセプターは MICA により刺激され、NK 細胞を活性化する。肝がんが NK 細胞の標的になるためにはこの MICA-NKG2D 経路が重要である。我々は肝がん患者において MICA が可溶型として血中に分泌され、疾患の進行に伴い高値になることを報告した。可溶型 MICA は NKG2D の発現を低下させることにより免疫抑制的に働くことが指摘されているが、実際にヒトの体内でこのような現象がおこっているかどうかは不明である。本研究では肝がん患者に治療介入を行うことにより、血中 MICA および NKG2D 発現がどのように変動するかを解析し、両者の生体内での関連について検討を行った。TAE 治療を行った肝がん患者 38 名と治療を行わなかった肝がん患者 21 名を登録し、治療前と治療後 2 週間の血清 MICA をおよび NKG2D 発現を前向きに解析した。TAE 治療介入により血清 MICA は有意に低下したが、対照群では 2 週間の間では MICA 値の変化は認めなかった。NKG2D 発現は NK 細胞、CD8 陽性細胞のいずれにおいても TAE 治療介入により有意にその発現が上昇したが、対照群では変化がみられなかった。MICA の変動と NKG2D の変動の間には負の相関が認められた。肝がん患者における可溶型 MICA は治療介入により低下し、それに伴って NKG2D の発現は改善した。両者の間には負の相関があることから、血中の MICA は免疫細胞における NKG2D の発現をダイナミックに調節していることが示唆された。

A. 研究目的

Natural killer (NK) 細胞の機能は多様な抑制性レセプターと活性化レセプターからのシグナルのバランスにより規定されている。活性化レセプターのなかで NKG2D (natural killer group 2 D) は最も高頻度に発現するレセプターであり、我々は肝が

ん細胞に対する反応性を規定するレセプターであることを明らかにした。NKG2D のリガンド MHC class I-related chain molecules (MIC) A は消化管上皮細胞や一部の胸腺細胞を除いては正常細胞には発現しておらず、ストレスを受けた細胞やトランスフォームした上皮細胞でのみ発現が誘

導される。肝がんにおいても高頻度に MICA の発現がみられることが我々の研究により明らかになっている。

近年、MICA は酵素的な切断をうけて培養液中に分泌されること、また、ある種のがん患者の血清中に検出されることが報告されている。我々は可溶型 MICA が肝硬変患者や肝がん患者の血清中に検出されることを報告した。本研究では肝疾患患者における可溶型 MICA の臨床的な意義を明らかにするために、治療介入を行った肝がん患者の血清 MICA と NKG2D 発現について解析を行った。

B. 研究方法

TAE 治療を行った 38 名の肝がん患者を前向きに登録し、治療前および治療後 2 週間目に採血を行った。患者背景を一致させた対照群 21 名について 2 週間間隔で採血を行った。可溶型 MICA は ELISA 法により測定した。NKG2D の発現は NK 細胞および CD8 陽性細胞について FACS にて解析した。

可溶型 MICA を健常者の NK 細胞に添加し、NKG2D 発現および細胞傷害活性に与える影響を解析した。

C. 研究成果

可溶型 MICA は TAE 治療介入により有意に低下したが、対照群では変化を認めなかった。NKG2D の発現は NK 細胞、CD8 陽性 T 細胞のいずれにおいても TAE 治療介入により有意に上昇した。対照群では有意な変化は認められなかった。MICA の変化と NKG2D 発現の変化をプロットすると、両者の間には負の相関が認められた。

健常者の NK 細胞の NKG2D 発現は可溶

型 MICA の添加により減弱した。HepG2 肝がん細胞に対する NK 細胞の細胞傷害活性は MICA-NKG2D 経路に依存していた。可溶型 MICA を添加した NK 細胞は HepG2 肝がん細胞に対する細胞傷害活性が低下した。

D. 考察と結論

肝がんに対する治療介入は血清中の可溶型 MICA のレベルを低下させ、それに伴い免疫細胞に発現する NKG2D の発現は改善した。両者の変化の間には負の相関があり、肝疾患患者における可溶型の MICA は NKG2D の発現を負に制御していることが示唆された。In vitro において可溶型 MICA は NK 細胞の NKG2D 発現を低下させ、NKG2D に依存した肝がんに対する細胞傷害活性を低下させた。肝がんに対する治療介入は NKG2D に基づく免疫環境を改善する可能性があると考えられる。

E. 研究発表

論文発表

1. Takehara T, Uemura A, Tatsumi T, Suzuki T, Kimura R, Shiotani A, Ohkawa K, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N. Natural killer cell-mediated ablation of metastatic liver tumors by hydrodynamic injection of IFN α gene to mice. *Int J Cancer* 120: 1252-1260, 2007.
2. Jinushi M, Takehara T, Tatsumi T, Yamaguchi S, Sakamori R, Hiramatsu N, Kanto T, Ohkawa K, Hayashi N. Natural killer cell and hepatic cell interaction via NKG2A leads to

- dendritic cell-mediated induction of CD4⁺ CD25⁺ T cells with PD-1-dependent regulatory activities. *Immunology* 120: 73-82, 2007.
3. Tatsumi T, Takehara T, Yamaguchi S, Sasakawa A, Sakamori R, Ohkawa K, Kohga K, Uemura A, Hayashi N. Intrahepatic delivery of α -galactosylceramide-pulsed dendritic cells suppresses liver tumor. *Hepatology* 45: 22-30, 2007.
 4. Miyatake H, Kanto T, Inoue M, Sakakibara M, Kaimori A, Yakushijin T, Itose I, Miyazaki M, Kuzushita N, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N. Impaired ability of interferon-alpha-primed dendritic cells to stimulate Th1-type CD4 T-cell response in chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 14: 404-412, 2007.
 5. Tatsumi T, Takehara T, Yamaguchi S, Sasakawa A, Miyagi T, Jinushi M, Sakamori R, Kohga K, Uemura A, Ohkawa K, Storkus WJ, Hayashi N. Injection of IL-12 gene-transduced dendritic cells into mouse liver tumor lesions activates both innate and acquired immunity. *Gene Ther* 14: 863-871, 2007.
 6. Itose I, Kanto T, Inoue M, Miyazaki M, Miyatake H, Sakakibara M, Yakushijin T, Oze T, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Katayama K, Kato M, Hayashi N. Involvement of dendritic cell frequency and function in virological relapse in pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C patients. *J Med Virol* 79: 511-521, 2007.
 7. Irie T, Tsujii M, Tsuji S, Yoshio T, Ishii S, Egawa S, Kakiuchi Y, Nishida T, Yasumaru M, Iijima H, Murata H, Takehara T, Kawano S, Hayashi N. Synergistic antitumor effects of celecoxib with 5-fluorouracil depend on IFN-gamma. *Int J Cancer* 121: 878-883, 2007.
 8. Yamaguchi S, Tatsumi T, Takehara T, Sakamori R, Uemura A, Mizushima T, Ohkawa K, Storkus WJ, Hayashi N. Immunotherapy of murine colon cancer using receptor tyrosine kinase EphA2-derived peptide-pulsed dendritic cell vaccines. *Cancer* 110: 1469-1477, 2007.
 9. Sakamori R, Takehara T, Ohnishi C, Tatsumi T, Ohkawa K, Takeda K, Akira S, Hayashi N. Signal transducer and activator of transcription 3 signaling within hepatocytes attenuates systemic inflammatory response and lethality in septic mice. *Hepatology* 46: 1564-1573, 2007.
 10. Hiramatsu N, Kurashige N, Oze T, Takehara T, Tamura S, Kasahara A, Oshita M, Katayama K, Yoshihara H, Imai Y, Kato M, Kawata S, Tsubocuhi H, Kumada H, Okanoue T, Kakumu S, Hayashi N. Early decline of hemoglobin can predict progression of

- hemolytic anemia during pegylated interferon and ribavirin combination therapy in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 38: 52-59, 2008.
11. Kanada A, Takehara T, Ohkawa K, Tatsumi T, Sakamori R, Yamaguchi S, Uemura A, Kohga K, Sasakawa A, Hikita H, Hijioka T, Katayama K, Deguchi M, Kagita M, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N. Type B Fulminant Hepatitis Is Closely Associated with a Highly Mutated Hepatitis B Virus Strain. *Intervirology* 50:349-401, 2007.
 12. Kurashige N, Hiramatsu N, Ohkawa K, Oze T, Inoue Y, Kurokawa M, Yakushijin T, Igura T, Kiso S, Kanto T, Takehara T, Tamura S, Kasahara A, Oshita M, Hijioka T, Katayama K, Yoshihara H, Hayashi E, Imai Y, Kato M, Hayashi N. Initial viral response is the most powerful predictor of the emergence of YMDD mutant virus in chronic hepatitis B patients treated with lamivudine. *Hepatol Res* (in press).
 13. Okanoue T, Itoh Y, Minami M, Hashimoto H, Yasui K, Yotsuyanagi H, Takehara T, Kumada T, Tanaka E, Nishiguchi S, Izumi N, Sata M, Onji M, Yamada G, Okita K, Kumada H. Guidelines for the antiviral therapy of hepatitis C virus carriers with normal serum aminotransferase based on platelet counts. *Hepatol Res* 38: 27-36, 2008.
 14. Toyama T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Oze T, Nakanishi F, Mochizuki K, Kanto T, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N. A New Prognostic System for Hepatocellular Carcinoma Including Recurrent Cases: A Study of 861 Patients in a Single Institution. *J Clin Gastroenterol* (in press).
- 学会発表
- The American Association for the Study of Liver Diseases**
58th Annual Meeting AASLD
November 2-6, 2007, Boston
- #308 High predictive value of early viral kinetics in peginterferon plus ribavirin combination therapy of genotype 1 infected patients with chronic hepatitis C. Oze T, Hiramatsu N, Inoue Y, Kurashige N, Kurokawa M, Yakushijin T, Igura T, Imanaka K, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Hijioka T, Yoshihara H, Imai Y, Hayashi E, Kato M, Minami Y, Ohkawa K, Kiso S, Kanto T, Takehara T, Kasahara A, Tamura S, Hayashi N.
 - #309 Impact of reducing peginterferon alfa-2b and ribavirin on early viral response in genotype 1 infected patients with chronic hepatitis C. Oze T, Hiramatsu N, Inoue Y, Kurashige N, Kurokawa M, Yakushijin T, Igura T, Imanaka K,

Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Katayama K, Yoshihara H, Inoue A, Imai Y, Hayashi E, Kato M, Nishikawa M, Minami Y, Tatsumi T, Kanto T, Takehara T, Kasahara A, Tamura S, Hayashi N.

- #417 Regulation of the NKG2D immunoreceptor by soluble MICA during transcatheter arterial embolization for hepatocellular carcinoma. Kohga K, Takehara T, Hikita H, Sasakawa A, Uemura A, Sakamori R, Yamaguchi S, Tatsumi T, Ohkawa K, Kanto T, Hiramatsu N, Katayama K, Kato M, Hayashi N.
- #451 Involvement of IL-7 and thymic stromal lymphopoietin in functional impairment of myeloid dendritic cells in chronic hepatitis C virus infection. Miyatake H, Kanto T, Inoue M, Sakakibara M, Itose I, Miyazaki M, Kakita N, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N.
- #464 Impaired TLR/RIG-I-mediated innate immunity in myeloid dendritic cells in HCV-infected individuals. Miyazaki M, Kanto T, Kakita N, Inoue M, Itose I, Miyatake H, Sakakibara M, Yakushijin T, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N.

#473 Involvement of regulatory T cell dynamics in the achievement of biochemical response in 48-week peg-IFN α 2B and ribavirin combination therapy for chronic

hepatitis C patients. Itose I, Kanto T, Inoue M, Kakita N, Miyazaki M, Miyatake H, Sakakibara M, Yakushijin T, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N.

- #636 IFN γ is critically important for IL-12-mediated NK cell activation and anti-tumor effect in the liver. Uemura A, Takehara T, Hikita H, Sasakawa A, Kohga K, Sakamori R, Yamaguchi S, Miyagi T, Tatsumi T, Ohkawa K, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N.
- #1222 Hepatic STAT3 attenuates systemic inflammatory response and lethality in septic mice. Sakamori R, Takehara T, Hikita H, Sasakawa A, Kohga K, Uemura A, Yamaguchi S, Tatsumi T, Ohkawa K, Hayashi N.
- #1380 Dendritic cells and regulatory T cells as decision markers for the duration of pegylated interferon- α and ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients. Kanto T, Itose I, Inoue M, Kakita N, Miyazaki M, Miyatake H, Sakakibara M, Yakushijin T, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N.

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

C型慢性肝疾患、肝癌における制御性T細胞の意義

分担研究者 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寄附講座准教授

研究の要旨

C型慢性肝疾患における肝病変の進展、肝発癌などには、HCVや癌細胞に対する免疫応答の低下が関与する。HCVや癌による免疫細胞機能低下の機序を解明し、その制御方法を開発することで肝病変の進展や発癌を抑止することが可能となる。制御性T細胞（Regulatory T cell, T-reg）は難治性ウイルス疾患や癌における免疫抑制機序として重要である。本年度はC型慢性肝疾患の病態におけるT-regの関与を検討した。HCV感染者では、自己反応性T細胞の抑制に関与するNatural T-reg頻度が非感染者に比べ増加していた。またHCV感染にも関わらず長期間肝機能正常を維持するPNALT群と肝障害を伴う慢性肝炎群とで比較すると、Natural T-regの頻度は差を認めなかったが、T-reg機能関連因子（FOXP3、CTLA-4）の発現、T細胞抑制機能はPNALT群で高値であった。以上よりPNALT群における肝炎抑制機序にT-regが関与する可能性が示唆された。

A.研究目的

C型肝炎ウイルス（HCV）の初感染時には約80%の症例で持続感染が成立する。慢性肝炎へと移行すると、HCVが自然に排除される可能性は極めて低く、肝臓では軽度の炎症が持続し線維化が進行する。一旦肝硬変に進展すると高率に発癌する。肝癌に対する新たな治療を開発するためには、1)HCV初感染時の持続感染阻止、2)慢性肝炎から肝硬変への進展抑制、3)肝硬変からの発癌抑制、4)肝癌治療後の再発抑制、といった各段階における包括的な対策が必要となる。HCVや癌細胞は種々の免疫細胞の機能異常を来し、持続感染や肝細胞障害機序、癌の進展や再発に関与する。従って初感染から肝癌へ至る経過を阻止するためには、免疫系の包括的な制御が必須である。本研究ではHCV、癌による免疫機能低下の機序を解明し、その制御方法を開発することを目標とする。本年度はHCV感染にも関わらず長期間肝機能正常を維持するPNALT群と肝障害を伴う慢性肝炎群との比較によって、肝障害抑制機序を解明することを目的とする。

B.研究方法

C型慢性肝疾患患者、肝癌患者、非感染者より採血し、末梢血中のNatural T-reg（CD4⁺CD25^{high}FOXP3⁺細胞）の頻度を比較検討する。また高速ソーティングによりNatural T-regを高純度で分取し、Real-time PCR法やPCR-Arrayによって遺伝子を包括的に解析する。特に抑制機能関連分子（FOXP3、CTLA4）の発現や、抗原非特異的T細胞反応に対する抑制機能を群間で比較し、各病態との関連を明らかにする。

（倫理面への配慮）

本研究は大阪大学医学部倫理委員会の承認を受けており、事前に被験者の同意を得ており倫理的問題はないと考える。

C.研究結果

HCV感染者における末梢血Natural T-reg頻度は非感染者に比べ増加していた。また長期間肝機能正常を維持するPNALT患者と肝障害を伴う慢性肝炎患者で比較すると、Natural T-reg頻度は両群に差を認めなかったが、T-reg機能誘導因子（FOXP3、CTLA-4）の発現、T細胞抑制機能はPNALT群で高値であった。

D.考察

HCV感染による肝細胞障害のEffectorはHCV特異的細胞障害性T細胞（Cytotoxic T lymphocyte, CTL）である。またTh1細胞もIFN- γ 産生などを介してCTLの誘導を賦活する。T-regはCTLやTh1細胞の機能を抑制することが知られており、PNALT患者では活性化したT-regが肝細胞障害に寄与するEffectorの機能を抑制することで、肝臓での炎症を緩和していると考えられる。HCV感染によってT-regが増加する機序、PNALT患者で機能が亢進する機序の解明は今後の課題である。

E.結論

HCV感染症では制御性T細胞の頻度が増加しており、PNALT患者での肝障害の抑制機序に制御性T細胞機能の亢進が関与することが示唆された。

F.健康危険情報 なし

G.研究発表

Itose, I., et al. Involvement of dendritic cell frequency and function in virological relapse in pegylated interferon- α 2b and ribavirin therapy for chronic hepatitis C patients. *J Med Virol* 2007. 79: 511-521

Abe, T., et al. Hepatitis C virus nonstructural protein 5A modulates the toll-like receptor-MyD88-dependent signaling pathway in macrophage cell lines. *J Virol* 2007. 81: 8953-8966.

H.知的財産権の出願・登録状況

特に予定なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

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
Nakamoto Y (中本)	Enhanced antitumor effects of suicide gene therapy combined with adenovirally delivered monocyte chemoattractant protein-1.	Jim Xiang	Recent Development in Gene Therapy.	Transworld Research Network	India	2007	265-281
江口潤一 (井廻)	血液検査	坪内博仁	肝癌	最新医学社	大阪	2007	48-55

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
Takehara T, (林)	Natural killer cell-mediated ablation of metastatic liver tumors by hydrodynamic injection of IFN α gene to mice.	Int J Cancer	120	1252-1260	2007
Jinushi M, (林)	Natural killer cell and hepatic cell interaction via NKG2A leads to dendritic cell-mediated induction of CD4 ⁺ CD25 ⁺ T cells with PD-1-dependent regulatory activities.	Immunology	120	73-82	2007
Tatsumi T, (林)	Intrahepatic delivery of α -galactosylceramide-pulsed dendritic cells suppresses liver tumor.	Hepatology	45	22-30	2007
Miyatake H, (林)	Impaired ability of interferon-alpha-primed dendritic cells to stimulate Th1-type CD4 T-cell response in chronic hepatitis C virus infection.	J Viral Hepat	14	404-412	2007

Tatsumi T, (林)	Injection of IL-12 gene-transduced dendritic cells into mouse liver tumor lesions activates both innate and acquired immunity.	Gene Ther	14	863-871	2007
Itoe I, (林)	Involvement of dendritic cell frequency and function in virological relapse in pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C patients.	J Med Virol	79	511-521	2007
Irie T, (林)	Synergistic antitumor effects of celecoxib with 5-fluorouracil depend on IFN-gamma.	Int J Cancer	121	878-883	2007
Yamaguchi S, (林)	Immunotherapy of murine colon cancer using receptor tyrosine kinase EphA2-derived peptide-pulsed dendritic cell vaccines.	Cancer	110	1469-1477	2007
Sakamori R, (林)	Signal transducer and activator of transcription 3 signaling within hepatocytes attenuates systemic inflammatory response and lethality in septic mice.	Hepatology	46	1564-1573	2007
Hiramatsu N, (林)	Early decline of hemoglobin can predict progression of hemolytic anemia during pegylated interferon and ribavirin combination therapy in patients with chronic hepatitis C.	Hepatol Res	38	52-59	2008
Kanada A, (林)	Type B Fulminant Hepatitis Is Closely Associated with a Highly Mutated Hepatitis B Virus Strain.	Intervirology	50	349-401	2007

Kurashige N, (林)	Initial viral response is the most powerful predictor of the emergence of YMDD mutant virus in chronic hepatitis B patients treated with lamivudine.	Hepatol Res			2007
Tani, H., (林)	Replication-competent recombinant vesicular stomatitis virus encoding hepatitis C virus envelope proteins.	<i>J Virol</i>	81	8601-8612	2007
Abe, T., (林)	Hepatitis C virus nonstructural protein 5A modulates the toll-like receptor-MyD88-dependent signaling pathway in macrophage cell lines.	<i>J Virol</i>	81	8953-8966	2007
Moriishi K, (松浦)	Critical role of PA28 γ in hepatitis C virus-associated steatogenesis and hepatocarcinogenesis.	PNAS	104	1661-1666	2007
Abe T., (松浦)	Hepatitis C Virus Nonstructural Protein 5A Modulates the Toll-Like Receptor-MyD88-Dependent Signaling Pathway in Macrophage Cell Lines	J. Virol.	81	8953-8966	2007
Mori Y., (松浦)	Processing of Capsid Protein by Cathepsin L Plays a Crucial Role in Replication of the Japanese Encephalitis Virus in Neural and Macrophage Cells.	J. Virol.	81	8477-8487	2007
Tani H., (松浦)	Replication-competent recombinant vesicular stomatitis virus encoding hepatitis C virus envelope proteins.	J. Virol.	81	8601-8612	2007
Yamamoto M., (松浦)	Enhanced TLR-mediated NF-IL6 dependent gene expression by Trib1 deficiency.	J. Exp. Med.	204	2233-2239	2007
Moriishi K., (松浦)	Host factors involved in the replication of hepatitis C virus.	Rev. Med. Virol.	17	343-354	2007

Koike K, (小池)	Prevalence of Coinfection with Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis C Virus in Japan	Hepatol Res	37	2-5	2007
Koike K (小池)	Pathogenesis of HCV-associated HCC: dual-pass carcinogenesis through the activation of oxidative stress and intracellular signaling	Hepatol Res	37	S115-120	2007
Koike K (小池)	Hepatitis C virus contributes to hepatocarcinogenesis by modulating metabolic and intracellular signaling pathways	J Gastroenterol Hepatol	22	S108-111	2007
Miyamoto H, (小池)	Involvement of the PA28 γ -Dependent Pathway in Insulin Resistance Induced by Hepatitis C Virus Core Protein	J Virol	81	1727-1735	2007
Moriishi K, (小池)	Critical role of PA28 γ in hepatitis C virus-associated steatogenesis and hepatocarcinogenesis	Proc Natl Acad Sci USA	104	1661-1666	2007
Yotsuyanagi H, (小池)	Drug resistance in antiviral treatment for infections with hepatitis B and C viruses	J Gastroenterol	42	329-335	2007
Suzuki Y, (小池)	Fatal liver failure caused by reactivation of lamivudine-resistant hepatitis B virus: A case report	World J Gastroenterol	13	964-969	2007
Aono J, (小池)	Amino acid substitutions in S region of hepatitis B virus in the sera from patients with acute hepatitis.	Hepatol Res	37	731-739	2007
Ichibangase T, (小池)	A Proteomics Method Revealing Disease-Related Proteins in Livers of Hepatitis-Infected Mouse Model	J Proteome Res	6	2841-2849	2007